UNIVERSITÉ DE STRASBOURG

FACULTÉ DE PHARMACIE

ANNÉE 1928/1929 N° 46

RECHERCHES TOXICOLOGIQUES ET CHIMIQUES

SUR LE

CNESTIS POLYPHYLLA

(Plante toxique de Madagascar)

THÈSE

présentée et soutenue publiquement le 31 juillet 1929
à la Faculté de Pharmacie de Strasbourg
pour obtenir le grade de Docteur de l'Université
(Mention Pharmacie)

par

Isaac KOVELMANN
Pharmacien

EXAMINATEURS DE LA THÈSE : MM. E. LOBSTEIN, Professeur, *Président* ; F. JADIN, » ; E. LABORDE, » — *Juges*

Les Editions Universitaires de Strasbourg
1a, Place de l'Université — Quai du Maire Dietrich, 1
(Foyer Universitaire)
STRASBOURG
R. C. Strasbourg 3677

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548014_0024

UNIVERSITÉ DE STRASBOURG

FACULTÉ DE PHARMACIE

ANNÉE 1928/1929 Nº 46

RECHERCHES TOXICOLOGIQUES ET CHIMIQUES

SUR LE

CNESTIS POLYPHYLLA

(Plante toxique de Madagascar)

THÈSE

présentée et soutenue publiquement le 31 juillet 1929
à la Faculté de Pharmacie de Strasbourg
pour obtenir le grade de Docteur de l'Université
(Mention Pharmacie)

par

Isaac KOVELMANN
Pharmacien

EXAMINATEURS DE LA THÈSE

MM. E. LOBSTEIN, Professeur, *Président*
F. JADIN, » *Juges*
E. LABORDE, » *Juges*

Les Editions Universitaires de Strasbourg
1a, Place de l'Université — Quai du Maire Dietrich, 1
(Foyer Universitaire)
STRASBOURG
R. C. Strasbourg 3677

UNIVERSITÉ DE STRASBOURG

FACULTÉ DE PHARMACIE

ADMINISTRATION

MM. JADIN, *Doyen*, ✻, ⚱ I, ⚜
SARTORY, *Assesseur*, ✻ C, ⚱ I, ⚜
BONTEMS, *Secrétaire*, ⚱ I

PROFESSEURS

MM, JADIN, ✻, ⚱ I, ⚜.....	Pharmacie chimique.
A. SARTORY, ✻ C, ⚱ I, ⚜	Bactériologie
LAVIALLE, ⚱ I ⚜.....	Botanique.
LABORDE, ⚱ I	Chimie organique.
N.....	Pharmacie galénique.
VOLMAR, ⚱ I.....	Analyse chimique.
LOBSTEIN, ✻, ⚜, ⚱ I	Matière médicale.

PROFESSEUR HONORAIRE

M. BRÆMER, ✻, ⚱ I, ⚜ O.

COURS COMPLÉMENTAIRES

MM. A. SARTORY, ✻ C, ⚱ I ⚜ .	Cryptogamie.
LABORDE, ⚱ I.....	Chimie biologique.
LAVIALLE, ⚱ I ⚜.....	Zoologie.
VOLMAR, ⚱ I.....	Chimie minérale.
LOBSTEIN, ✻, ⚜, ⚱ I....	Hydrologie et Hygiène.
BRÆMER, ✻, ⚱ I, ⚜ O....	Législation et Déontologie.
LAPP, ⚱.....	Physique.
COLLARD, ⚜, ⚱.....	Toxicologie.

R. UNIV
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

CHEFS DE TRAVAUX PRATIQUES

MM. LAPP, ⚱.....	Chimie pharmaceutique.
COLLARD, ⚜, ⚱.....	Chimie et Physique.
GARNIER, ⚜, ⚱.....	Histoire naturelle.
R. SARTORY.....	Bactériologie et Parasitologie.

A Monsieur le Professeur E. LOBSTEIN

Chevalier de la Légion d'Honneur.

En témoignage de ma vive reconnaissance.

A LA MÉMOIRE DE MON FRÈRE

A MA MÈRE ET A MON PÈRE

En gage de profonde affection.

INTRODUCTION.

Le Cnestis polyphylla, objet de notre étude, appartient à la petite famille des Connaracées constituée par 140 espèces environ, toutes exotiques, et qui ne sont pas utilisées en médecine européenne. Il en est, par contre, qui sont employées dans les pays d'origine, en particulier à Madagascar [1], comme toniques et astringentes à cause des substances tanniques et résino-balsamiques que leurs tissus renferment. Certaines d'entre elles auraient des propriétés vomitives ; il en est même de particulièrement toxiques.

Ainsi le *Connarus Africanus* est employé en infusion sur les plaies et les brûlures ;

Le *Connarus Pinnata* donne une écorce qui sert à traiter les aphtes ;

Le *Cnestis Glabra* [2] est utilisé contre la fièvre et la phtisie ; il posséderait aussi des propriétés convulsives et tétaniques ;

L'*Agelaca Lamarckii* de Madagascar est employé comme vomitif ;

Le *Cnestis Polyphylla* sert aux Malgaches pour empoisonner les chiens [3].

C'est l'étude de la racine et de la tige du Cnestis polyphylla qui fait l'objet du présent travail. Notre but a été d'une part d'étudier l'action toxique de cette plante, d'autre part d'en faire une étude chimique et en particulier de

---

[1] H. Baillon : Histoire des Plantes, T. II, p. 5–20.

[2] W. Bojer : Hortus Mauritianus, Maurice 1837, p. 84.

[3] Edouard Heckel : Plantes médicinales de Madagascar, Annales du Musée Colonial de Marseille, 1903, 2e série, p. 97.

caractériser et isoler si possible le principe actif. Accessoirement et très brièvement nous donnons, au début, une rapide description botanique du Cnestis polyphylla, après un rappel de quelques généralités sur la petite famille des Connaracées.

Nos recherches comprennent par là-même trois parties :

1° Une étude botanique succincte ;

2° Une étude toxicologique, c'est-à-dire des essais physiologiques ;

3° Une étude chimique.

Les matériaux (racines et quelques tiges) avaient été récoltés à Maramanga (Madagascar) en octobre 1927 et séchés à l'ombre avant l'envoi. Ils ont été offerts par M. JUMELLE, Professeur à la Faculté des Sciences et Directeur du Musée Colonial de Marseille, qui les avait reçus de M. PERRIER de la BATHIE.

Ces recherches furent faites dans le Laboratoire de Matière Médicale de la Faculté de Pharmacie de Strasbourg. Elles ont été malheureusement limitées par la petite quantité de matériaux dont nous disposions et aussi par le temps : commencées en novembre 1928, elles durent être interrompues en juin 1929 par la nécessité où nous nous trouvions de regagner notre Patrie, sans pouvoir attendre l'arrivée de matériaux complémentaires suffisants et spécialement récoltés [1].

Avant d'exposer nos recherches, nous tenons à exprimer à notre Maître, Monsieur le Professeur E. LOBSTEIN, qui nous donna le sujet de cette Thèse, notre respectueuse gratitude pour l'attention avec laquelle il a guidé notre travail, ses précieux conseils et ses encouragements de tous les instants. Nous conserverons un souvenir ineffaçable du temps passé dans son Laboratoire. Qu'il veuille bien recevoir

[1] Demandés à Madagascar fin décembre 1928, ces matériaux ne nous étaient pas encore parvenus en juin 1929.

ici l'hommage de notre attachement et de notre reconnaissance.

Nous témoignons aussi notre gratitude à Monsieur le Professeur F. JADIN, Doyen de la Faculté de Pharmacie de Strasbourg, qui a toujours si aimablement suivi nos efforts, ainsi qu'à Monsieur le Professeur E. LABORDE, pour l'honneur qu'ils nous font en acceptant d'être de notre Jury de Thèse.

Monsieur le Professeur BOUIN, Directeur de l'Institut d'Histologie de la Faculté de Médecine de Strasbourg, a bien voulu s'intéresser à notre modeste travail, et très obligeamment examiner dans son Laboratoire les organes que, chez l'animal intoxiqué, le Cnestis polyphylla paraissait léser. Nous le prions d'accepter nos remerciements avec notre respectueuse et très vive reconnaissance pour nous avoir ainsi, avec tant d'amabilité et si utilement, fait bénéficier de sa science.

Nous remercions aussi très cordialement Monsieur BONNET, Chef de Laboratoire à la Faculté des Sciences de Strasbourg, qui avec tant d'empressement effectua et nous fit connaître les mesures de chronaxie dans le beau Service de Physiologie générale que dirige Monsieur le Professeur TERROINE.

Et nous remercions de même Monsieur P. BOHN, Chef de Travaux de Micrographie à la Faculté de Pharmacie qui, avec une extrême complaisance, nous aida de ses conseils et de son talent pour la partie botanique de notre Thèse.

Nous ne saurions enfin oublier dans notre gratitude les savants à qui nous devons les matériaux d'études ou des renseignements utiles : Monsieur H. PERRIER DE LA BATHIE et Monsieur le Professeur JUMELLE.

PREMIÈRE PARTIE.

ÉTUDE BOTANIQUE.

I. — GÉNÉRALITÉS SUR LA FAMILLE DES CONNARACÉES.

La famille des Connaracées, à laquelle appartient le *Cnestis polyphylla*, est de création peu ancienne. Les plantes qui la constituent à présent ont été en effet longtemps rangées parmi les Térébinthacées[1].

C'est en 1818 seulement que la formation de cette famille fut proposée par R. BROWN dans son travail sur les plantes d Afrique occidentale. Il distingua les Connaracées des Térébinthacées par leur ovule, qui est orthotrope chez celles-là et anathrope chez celles-ci, et aussi par la graine qui renferme un embryon à radicule supère.

La famille comprenait trois genres : Connarus, Rourea, Cnestis. Plus tard, en 1850, PLANCHON y faisait rentrer les deux genres Manotes et Agelæa ; ensuite, J. HOOKER et MIQUEL y placèrent également le genre Tricholobus. Actuellement la famille se divise en deux sous-familles : Les Connarées et les Cnestidées.

Mais ces sous-familles comprennent des genres variant suivant les auteurs :

[1] PLANCHON : Histoire naturelle des drogues simples. T. III, p. 487.

Cnestis polyphylla

d'après J.-B. de Lamarck

(Lamarck, Illustrations des Genres
Tome II, pl. 387 — Paris 1823.)

Classification de Baillon[1].

Connarées :	Connarus	Cnestidées :	Cnestis
	Agelaea		Cnestidium
	Rourea		Manotes
			Taeniochlena
			Tricholobus

Classification de G. Bentham et J. Hooker[2] :

Connarées :	Connarus	Cnestidées :	Cnestis
	Agelaea		Cnestidium
	Bernardinia		Elliphantus
	Byrsocarpus		Manotes
	Rourea		Taeniochlena
			Tricholobus
			Troostwyckia

Classification de D. Olivier[3] :

Connarées :	Connarus	Cnestidées :	Cnestis
	Agelaea		Manotes
	Byrsocarpus		
	Rourea		

1° *Caractères extérieurs.*

Les Connaracées sont des arbres ou arbustes avec feuilles opposées, ordinairement composées et entièrement coriacées.

---

[1] H. Baillon : Histoire des Plantes. T. II, p. 17-20.

[2] G. Bentham et J. Hooker : Genera plantarum. Vol. I, p. 430 à 439.

[3] D. Oliver : Flora of tropical Africa. Vol. I, p. 451-463.

Les fleurs sont hermaphrodites régulières ou presque régulières, cinq mères. Calice à cinq sépales persistants, valvus ou imbriqués. Corolle à cinq pétales, parfois plus courts que les sépales, libres ou légèrement soudés. Les étamines sont périgynes ou hypogynes, cinq ou dix. Anthères biloculaires à déhiscence introrse. Le gynécée est formé de cinq carpelles distincts, tous fertiles ou un seul fertile.

Le fruit est une capsule, et les graines possèdent ou non un arille. L'embryon est albuminé ou exalbuminé.

La famille des Connaracées est placée dans la classification botanique entre les familles des Légumineuses et des Rosacées.

Il y a en effet une grande similitude entre les Légumineuses et les Connaracées : les premières se distinguent seulement par leurs stipules et par leur ovule complètement réfléchi, les autres caractères étant semblables. — D'autre part les Connaracées se rapprochent des Rosacées par les genres Agelæa et Manotes qui possèdent les carpelles biovulés comme les Spirées des Rosacées.

2° *Caractères histologiques.*

Dans la structure des Connaracées nous avons noté la présence de nombreux éléments secréteurs : [1]

Cellules à mucilage dans les feuilles des Agelæa, Cnestis, Connarus, Bernardinia et Rourea ;

Cellules secrétrices à contenu résineux dans les feuilles de Connarus ;

Poches à mucilage dans l'écorce primaire de la tige de Rourea induta ;

Canaux tannifères à grand lumen, dans le liber secondaire de la tige du Connarus fulvus.

[1] Hans Solederer : Systematische Anatomie der Dicotyledonnen, p. 28 288.

3° *Distribution géographique.*

L'aire de dispersion des Connaracées est très étendue, et on les trouve dans toutes les régions tropicales[1]. Les pays où elles sont le plus répandues sont l'Asie, principalement l'Inde et l'Archipel Malais ; leur limite au nord est représentée par le Hong-Kong. En Amérique, elles croissent surtout au Brésil, mais on les rencontre assez abondamment aussi en Guyane et aux Antilles. Le Rourea oblongifolia se trouve même dans la partie sud du Mexique.

En Afrique, on connaît des Connaracées dans les régions centrale, occidentale et orientale. De même à Madagascar elles ne semblent pas être rares. En Australie, on n'a signalé jusqu'à présent que deux espèces originaires de Queenland : ce sont des espèces des genres Rourea et Tricholobus.

Tels sont les caractères généraux de la famille des Connaracées. Nous allons exposer en particulier ceux du « Cnestis polyphylla ».

II. — Étude de cnestis polyphylla.

Noms botaniques : Cnestis polyphylla Lamarck.
Cnestis bullata Baillon.

Noms indigènes : *Malgaches* : Voasefaka, Rehibo, Sanganakolahy.
Mauriciens : Liane à paniers, Liane des rats.

Habitat. — Ile de Madagascar et Ile Maurice. Croît dans les forêts sur les sommets des montagnes de la Savane et dans les gorges de la Rivière Noire.

---

[1] A. Engler et K. Prante : Pflanzenfamilien nebst ihren Gattungen und wichtigen Arten. Volume III (3e série), p. 61.

1° *Caractères extérieurs.*

Le Cnestis polyphylla est un arbuste de 1 à 2 mètres de hauteur à rameaux plus ou moins sarmenteux. Les feuilles sont composées imparipennées, sans stipules. Les folioles sont ovales, oblongues, un peu velues, médiocrement pétiolées. — Les fleurs hermaphrodites sont disposées en grappes tomentueuses à pédicelles très courts ; le calice persistant est formé de cinq sépales libres ; la corolle comprend cinq pétales ; l'androcée est obdiplostémone ; le gynécée est formé de cinq carpelles. Le fruit est une capsule rouge très obtuse. La graine est albuminée et pourvue d'un arille peu développé.

Nous avons dit avoir reçu des racines et des tiges comme matériaux d'étude voici leurs caractères :

Racine. — Les racines du Cnestis polyphylla telles que nous les avons reçues, se présentent en morceaux irréguliers et contournés de 40-45 cm. de longueur et 5-8 cm. d'épaisseur. De ces racines principales se détachent des racines secondaires de 15-20 cm. de longueur et de 1-2 cm. d'épaisseur. Les radicelles n'ont que quelques millimètres de diamètre et 15-20 cm. de long. ; elles sont à leur tour ramifiées.

L'écorce, de couleur gris-brun et d'une épaisseur de 2-3 mm., se détache facilement du bois après dessiccation. La section transversale montre un tissu de couleur jaunâtre. Le bois occupe presque toute la masse centrale de la racine et a une couleur jaune-clair et une consistance très dure. La racine fraîche exhalerait une odeur forte de choux ou de raifort, mais desséchée, elle est inodore et sans saveur.

Tige. — La tige se présente en morceaux de 15 à 20 cm. de long et de 10-12 cm. de diamètre. L'écorce est plus épaisse que celle de la racine : 6 mm. à 1 cm. Elle a une couleur

brun-sale à l'extérieur, jaune à l'intérieur, et se détache facilement du bois. Le bois, très dur, a un diamètre de 9 à 11 cm. Sa couleur est jaune-clair ; il est inodore et insipide.

2° *Caractères histologiques.*

Racine. — Le suber, peu développé, est formé de grandes cellules rectangulaires. Le phelloderme est presque uniquement constitué par des cellules épaissies et sclérifiées en fer à cheval ; les ponctuations des membranes sont très visibles. Ce phelloderme a une épaisseur variable et ses cellules prennent rapidement des formes irrégulières.

Le liber secondaire est environ cinq fois plus développé que le périderme. On y rencontre des fibres très fortement scléreuses, épaisses, dans du tissu conjonctif lignifié, formé d'éléments de dimensions à peu près semblables, et de grands vaisseaux irrégulièrement répartis. Les rayons médullaires, à une ou deux rangées de cellules ponctuées, s'élargissent en entonnoir vers le phelloderme. L'axe de la racine est entièrement sclérifié.

Tige. — La structure de la tige ressemble beaucoup à celle de la racine, mais elle se distingue par les caractères suivants :

1° Le tissu sclérifié qui fait suite au suber est du parenchyme cortical primaire comme le prouvent les nombreux débris de structure identique qu'on retrouve encore en dehors du suber.

2° Les fibres sont beaucoup plus abondantes dans le liber secondaire ; on les rencontre jusqu'au voisinage du cambium.

3° Les rayons médullaires qui traversent le liber sont souvent formés d'éléments sclérifiés et ponctués.

3° *Examen microchimique.*

Nous avons appliqué sur les coupes de racine et de tige du Cnestis Polyphylla les réactifs classiques utilisés en microchimie végétale.

Racine. — 1° *Amidon.* L'eau iodée nous a donné une coloration bleue dans les vaisseaux du parenchyme ligneux. En traitant le bois de la racine finement pulvérisé par le même réactif, nous avons pu déterminer la forme exacte des grains d'amidon : ils ont un contour arrondi, pas de hile visible, et leurs dimensions varient de 20 sur 30 μ à 10 sur 10 μ.

2° *Tanin.* — Le perchlorure de fer a produit une coloration noire dans les cellules du liège et dans les rayons médullaires. Dans nos recherches ultérieures (p. 77) nous avons pu constater que le tanin appartient au groupe gallique.

3° *Corps gras.* — *a*) La réaction par l'orcanette acétique a été négative.

b) L'acide osmique en solution aqueuse à 1 % a donné une coloration noire dans les cellules à tanin. Cette réaction n'est pas caractéristique : ce réactif est en effet réduit en osmium par le tanin [1].

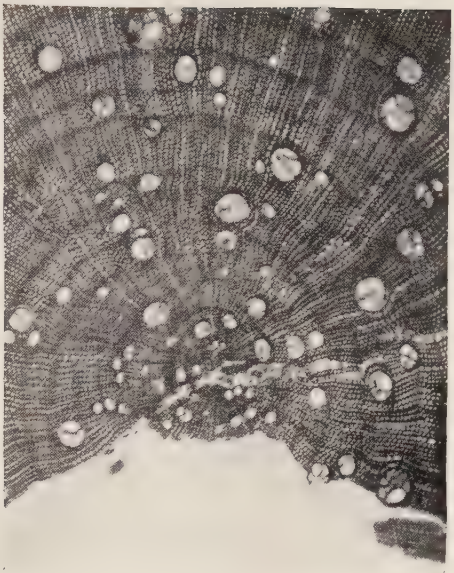
4° *Gommes.* — La réaction de l'hématoxyline a été négative.

5° *Diastases.* — Le réactif de Millon ne nous a pas donné de coloration caractéristique.

6° *Substances minérales.* — Nous avons trouvé de nombreux cristaux d'oxalate de calcium dans les parenchymes

[1] Beille : Botanique pharmaceutique, pages 419, 481.

TIGE, écorce



TIGE, bois

RACINE

libérien et ligneux. Pour identifier ces cristaux, nous avons traité les coupes :

a) par l'acide acétique : les cristaux n'ont pas été attaqués.

b) par l'acide chlorhydrique : les cristaux sont dissous.

7° *Alacaloïdes.* — Pour rechercher les alcaloïdes nous avons traité les coupes par les réactifs suivants :

a) Réactif de Bouchardat : précipité brun-foncé dans le parenchyme libérien et ligneux.

b) Réactif de Dragendorff : Précipité jaunâtre dans le parenchyme libérien et ligneux.

c) Acide phosphomolybdique : précipité jaunâtre dans le parenchyme libérien et ligneux.

Mais comme ces réactifs précipitent en même temps les protéines, nous avons suivi la marche indiquée par Errera [1], consistant à traiter pendant 24 heures les coupes par l'alcool tartrique à 5 % qui dissout les alcaloïdes, tandis qu'il précipite les matières protéiques. En faisant agir sur les coupes, ainsi traitées par l'alcool tartrique, les réactifs des alcaloïdes, les colorations mentionnées paraissent persister dans leur intégralité : la précipitation était donc due probablement aux matières albuminoïdes.

Tige. — Les résultats obtenus sur les coupes de la tige sont identiques à ceux observés sur les coupes de la racine. Une seule différence : les grains d'amidon sont très peu nombreux, mais leur forme est identique à celle des grains d'amidon de la racine.

---

[1] A. Goris : Localisation et rôle des alcaloïdes et des glucosides chez les végétaux. Lechevalier, édit., Paris, 1914.

Deuxième Partie.

ÉTUDE TOXICOLOGIQUE.

D'après les documents recueillis, ce serait seulement les racines de Cnestis que les Malgaches emploieraient pour empoisonner les chiens, mais nos recherches ont porté aussi sur la tige, puisque quelques tiges accompagnaient les racines que nous avons reçues. Nous ignorons par ailleurs si les feuilles les fleurs et les fruits du Cnestis pollyphylla ont une action toxique.

Nous verrons successivement les symptômes de l'empoisonnement, les lésions produites et la toxicité possible de certains tissus ou viscères de l'animal intoxiqué, l'action sur le système nerveux et musculaire, enfin la valeur toxique relative de la racine et de la tige et de leurs différentes parties (écorce, bois).

Nos expériences ont été faites sur des chiens, les lapins, des cobayes et des souris.

CHAPITRE PREMIER.

SYMPTOMES ET MARCHE DE L'EMPOISONNEMENT PAR LES RACINES ET TIGES DU CNESTIS POLYPHYLLA.

Les phénomènes et troubles généraux que provoque l'ingestion de racine ou de tige du Cnestis polyphylla sont particulièrement nets chez le chien et le lapin, et c'est le tableau de l'intoxication du chien que nous décrirons tout d'abord comme type.

L'intoxication fut produite avec l'écorce de la racine (racine et tige n'ayant ni odeur ni saveur, leur absorption se fait aisément).

Disons dès maintenant et d'une façon définitive que nous entendons par *écorce* à la fois le parenchyme cortical et le liber, et par *bois* les tissus lignifiés limités par le cambium

Expérience 1. — Faite sur le chien.

A un jeune chien très vigoureux pesant 6300 gr. on fait absorber, mêlés à sa nourriture, 25 gr. d'écorce assez finement pulvérisée (soit 4 gr. par kg. de poids vif). La température du chien à ce moment (10 heures du matin) est 37,6.

Pendant les cinq heures qui suivent rien d'anormal ne se manifeste. Six heures après l'ingestion (4 heures du soir), la température est 38,2 ; huit heures après l'ingestion les vomissements commencent et se continuent assez fréquem-

ment jusqu'au lendemain matin ; la température atteint 38,5, l'animal se tient debout, mais refuse toute nourriture ; vingt heures après l'ingestion, des troubles respiratoires apparaissent en même temps qu'une salivation abondante, du larmoiement, puis de la paralysie du train postérieur et l'animal reste couché sur le côté ; abolition des mouvements volontaires, puis convulsions qui durent deux à trois minutes et se répètent toutes les 15 à 20 minutes. La salivation est continue, très abondante, augmente pendant les convulsions, la respiration est haletante, stertoreuse. Vingt-quatre heures après l'ingestion, les convulsions cessent, l'animal est complètement inerte, sa température est 35°. Coma, et la mort a lieu 48 heures après l'ingestion de la drogue.

A l'autopsie : les glandes salivaires ont un volume deux fois moindre qu'à l'état normal ; les poumons sont congestionnés avec quelques points carnifiés. Le réseau vasculaire intestinal est de même congestionné ; le foie, la rate, les reins ne présentent rien d'anormal macroscopiquement.

La vessie est pleine ; l'urine renferme une forte proportion de glucose : 59 gr. 60 p. 1000 cc. ; de l'albumine : 1 gr. 25 p. 1000 cc. ; de l'acétone ; mais ne contient pas de pigments biliaires.

Dosage du glucose dans le sang : 2 gr. 97 p. 1000 cc.

Le glucose fut dosé dans l'urine d'après la méthode de G. BERTRAND [1]. Dans le sang, le dosage fut fait selon la technique suivante :

---

[1] Notre thèse devant être donnée à l'étranger, où la technique de G. BERTRAND n'est guère appliquée, nous indiquons le principe de celle-ci : 20 cc. de liquide sucré sont bouillis pendant 3 minutes avec 40 cc. de solution cupro-alcaline ; l'oxyde de cuivre précipité est dissous par une solution acide de sulfate ferrique, une proportion correspondante de sel ferrique passant à l'état de sel ferreux ; ce dernier est dosé au moyen d'une solution titrée de permanganate de potassium à 0,5 %, et des tables établies par G. BER-

50 cc. de sang prélevés dans le cœur, à l'autopsie, sont versés dans 50 cc. de solution saturée de fluorure de sodium pour empêcher la coagulation ; on ajoute de l'eau distillée jusqu'à 200 cc. et par petites portions, en agitant constamment, 30 cc. de réactif de PATEIN et DUFAU [1] ; on complète à 500 cc. avec de l'eau distillée. Le liquide est ensuite filtré et le filtrat est traité par un zinc en poudre (pour éliminer l'excès de mercure provenant du réactif) : On laisse en contact pendant 3-4 heures en agitant de temps en temps, puis on filtre. Le filtrat obtenu en dernier ressort est une solution de sang au dixième dans laquelle on fait le dosage du sucre d'après la méthode de Bertrand.

L'acétone fut décélée par la réaction de LEGAL, modifiée par IMBERT-BONNAMOUR : à 10 cc. d'urine on ajoute XX gouttes du réactif (P. E. acide acétique cristal. et sol. nitroprussiate de soude au 1/10e) ; on agite, puis laisse couler à la surface du liquide, sans mélanger, XX gouttes d'amoniaque : il se forme un anneau violet à la surface de séparation en présence d'acétone.

Les pigments biliaires furent recherchés selon la technique de GRIMBERT : 10 cc. d'urine sont agités avec 5 cc. de solution de chlorure de baryum au 1/10 et filtrés. Le précipité recueilli est mis dans un tube à essai avec 5 cc. d'alcool chlorhydrique (V gouttes d'ac. chlorhydrique concentré et 5 cc. d'alcool à 90°) ; après agitation, le tube est porté au B. M.

TRAND, donnent la quantité de sucre correspondant (La liqueur doit demeurer bleue pendant toute la durée de l'ébullition, sinon diluer le liquide sucré en proportions convenables).

[1] Réactif PATEIN et DUFAU :

Ac azotique	160 cc.
Oxyde rouge de mercure	200 gr.
Eau dist.	160 cc.

Dissoudre à l'ébullition ; après refroidissement ajouter.

Lessive de soude au 1/4	40 cc.

Compléter à 1000 cc. avec eau distillée.

bouillant pendant une minute, puis retiré : en présence de pigments biliaires, le liquide prend une teinte verte ou brunâtre. Notre liquide demeura incolore.

Expérience II. — Faite sur le lapin.

Poids de l'animal : 2970 gr.

Quantité d'écorce donnée : 5 gr. (soit 1 gr. 68 par kg. de poids vif).

Rien d'anormal pendant 24 heures. La température demeure : 37,5. Entre 30 et 34 heures après l'ingestion, les symptômes d'intoxication apparaissent identiques à ceux observés chez le chien : troubles de la respiration qui devient stertoreuse, salivation abondante, puis larmoiement, paralysie du train postérieur (48 heures après l'ingestion), convulsions ; puis l'animal devient inerte, et meurt 80 heures après l'ingestion.

A l'autopsie : mêmes constatations macroscopiques que chez le chien. Le volume des glandes salivaires est diminué d'un tiers environ, par rapport au volume normal.

Dans l'urine : 74 gr. 8 de glucose p. 1000 cc.
2 gr. d'albumine p. 1000 cc.

Présence d'acétone. Absence de pigments biliaires.

Dans le sang : 2 gr. 45 de glucose p. 1000 cc.

Le sang fut prélevé dans le cœur. Etant donné sa faible quantité, le dosage du sucre y fut fait selon la micro-méthode indiquée par G. Fontès et L. Thivolle :

Défécation. — 2,5 cc. de sang exactement mesurés sont mis dans une fiole jaugée de 25 cc. contenant quelques parcelles d'oxalate d'ammoniaque, et avec 8 cc. d'eau distillée on entraîne le sang qui peut adhérer aux parois. On ajoute alors 2,5 cc. de solution de Tungstate de soude à 10 % et 2,5 cc. de solution d'acide sulfurique, puis on complète au trait de jauge avec de l'eau distillée. Le tout est agité fortement et filtré. Le filtrat est donc une dilution de sang au dixième.

Dosage. — On choisit 2 tubes de centrifugation incolores de même hauteur et de même diamètre. On mesure dans l'un :

2 cc. de filtrat à doser
1 cc. liq. cupro-alcaline

dans l'autre (servant de témoin) :

2 cc. de sol. de glucose à 1 p. 2000
1 cc. de liq. cupro-alcaline

Les deux tubes sont mis dans l'eau bouillante pendant 6 minutes (en complète ébullition), puis retirés et dans chacun d'eux on ajoute VI gouttes de solution saturée de sulfate de magnésium et IV gouttes de solution saturée de carbonate de sodium.

Cette opération est faite pour enrober le Cu^2O dans un précipité gélatineux de carbonate de magnésium de centrifugation facile. Les tubes sont immédiatement replongés dans l'eau bouillante pendant une minute, puis on ajoute de l'eau distillée bouillante et on centrifuge.

Après la centrifugation, l'eau de lavage est décantée et le culot est additionné de 5 cc. de réactif phospho-molybdique (molybdate d'ammoniaque 40 gr. et lessive de soude à 38 B. 60 cc.). On attend 5 minutes pour permettre la teinte bleue d'atteindre son maximum d'intensité et on dose en faisant tomber dans les tubes une solution de permanganate de potasse à 0 gr. 08 p. 1000 jusqu'à décoloration complète.

Tube témoin (glucosé), MnO_4K écoulé : 12,8 cc.

Tube filtrat (sang), MnO_4K écoulé : 6,6 cc.

Le rapport $\frac{6,6}{12,8} = 0,515$ exprime en milligrammes le poids de glucose contenu dans les 2 cc. de filtrat, d'où 2 gr. 57 de glucose par litre de sang.

Expérience III. — Faite sur le cobaye.

Poids de l'animal : 500 gr.

1re dose d'écorce donnée : 1 gr. (soit 2 gr. par kg. de poids vif). Aucun symptôme au bout de 5 jours.

2e dose d'écorce donnée : 1 gr. 5 (soit 3 gr. par kg. de poids vif). Aucun symptôme au bout de 5 jours.

3e dose d'écorce donnée : 2 gr. (soit 4 gr. par kg. de poids de vif). Les symptômes apparaissent 62 heures après l'ingestion, semblables à ceux présentés par le lapin et le chien (respiration stertoreuse, paralysie du train postérieur, convulsions, la température tombe de 37,6 à 35,2) mais moins marqués. Deux jours après l'apparition des symptômes, l'état de l'animal semble s'améliorer, il essaie de manger mais regurgite aussitôt ; la paralysie d'ailleurs persiste et il meurt au 5e jour, soit 110 heures après l'ingestion.

A l'autopsie : congestion des poumons, en partie carnifiés. La vessie est vide.

Expérience IV. — Faite sur des souris (de 16 à 17 gr.).

Quantité ingérée difficile à préciser (0 gr. 40 environ). Mêmes symptômes de paralysie et convulsions. La mort survient dans l'espace de 5 à 6 jours. (Ces animaux servirent pour les mesures de chronaxie, p. 27).

L'abondante salivation, l'hyperglycémie et la glucosurie marquées laissent à supposer des altérations ou anomalies dans les tissus de la glande salivaire, du foie et du pancréas.

D'autre part la paralysie et les convulsions mettent en question quel est le système, nervex ou musculaire, particulièrement atteint par le toxique.

Ces recherches spéciales font l'objet des deux chapitres suivants.

CHAPITRE II.

LÉSIONS CYTOLOGIQUES ET RECHERCHE DE LA TOXICITÉ POSSIBLE DE CERTAINS TISSUS OU VISCÈRES DE L'ANIMAL INTOXIQUÉ.

Etant donnée la forte glycosurie observée chez les animaux intoxiqués par le Cnestis polyphylla, il était intéressant de voir si ce toxique produisait des altérations ou anomalies dans le tissu hépatique et le tissu pancréatique ; de même l'examen de la glande salivaire offrait un certain intérêt à cause de la salivation continue et abondante que le poison détermine.

Voici les constatations que nous devons à la grande obligeance de M. le Professeur BOUIN :

1° Le foie examiné au point de vue de sa teneur en glycogène n'a pas montré trace de cette substance : elle semble avoir totalement disparu de la cellule hépatique.

2° Il reste des grains sécrétoires très nombreux dans les cellules glandulaires du pancréas, lesquelles semblent même s'être mises en charge. Mais les ilôts de Langerhans semblent altérés, ce qui expliquerait peut-être l'absence de glycogène hépatique.

3° Les glandes salivaires (qui, nous l'avons vu, sont considérablement diminuées de volume) ne présentent, cytologiquement, rien de net.

Ce sont là les résultats d'un premier examen, très intéressants sans doute, mais qui, nous a dit M. le Professeur Bouin, ne peuvent servir que d'indications et mériteraient une étude plus approfondie, en faisant, par exemple, varier les expériences au point de vue durée et intensité d'intoxication, ce que ne nous ont pas permis et le temps et les matériaux dont nous disposions.

Nous avons d'autre part recherché si certains tissus ou viscères de l'animal intoxiqué par le Cnestis polyphylla étaient susceptibles de produire chez un animal sain des symptômes d'intoxication. Dans ce but nous avons fait les expériences suivantes :

Expérience V. — 2 cc. de sang prélevés dans le cœur d'un chien fortement intoxiqué (et qui mourut 3 heures après) sont injectés dans le péritoine d'un lapin : celui-ci n'a présenté aucun symptôme d'intoxication.

Expérience VI. — 20 cc. de sang prélevés de même par ponction cardiaque chez un chien intoxiqué sont injectés dans le péritoine d'un chien : celui-ci n'a présenté aucun symptôme d'intoxication.

Expérience VII. — 12 cc., puis 20 cc., puis 30 cc. de sang de lapin et de chien morts intoxiqués sont successivement mélangés à la nourriture d'un lapin, qui les absorbe parfaitement et n'a présenté aucun symptôme d'intoxication.

Expérience VIII. — Les viscères (foie, rate, poumons, cœur) ainsi que le sang de lapins morts intoxiqués sont, à plusieurs reprises, donnés en nourriture à un jeune chien : ils ne déterminent aucun symptôme d'intoxication.

Expérience IX. — Le cerveau et le bulbe de lapins morts intoxiqués sont de même donnés en nourriture à un

jeune chien, et ils ne déterminent aucun symptôme d'intoxication.

Il ne semble donc pas que les divers tissus de l'animal mort en intoxication aiguë soient susceptibles d'intoxiquer un animal sain ; en tout cas ils ne provoquent aucun symptôme d'empoisonnement.

Chapitre III.

ACTION SUR LES SYSTÈMES NERVEUX ET MUSCULAIRE.

1° *Objet du Travail.*

La toxicité générale de la substance étudiée se traduisant principalement chez les animaux sur lesquels nous avons expérimenté par des convulsions avec paralysie des membres, nous avons été amené à essayer de préciser le système sur lequel l'effet se fait particulièrement sentir (système nerveux ou système musculaire).

Si l'on veut être renseigné exactement sur le point, — nerf ou muscle —, où s'exerce l'action du corps étudié, il suffit de déterminer les constantes d'excitabilité du système nervo-musculaire ; autrement dit, on mesure la *chronaxie.*

On appelle chronaxie la durée minima pendant laquelle un courant d'intensité bien déterminée doit traverser un nerf ou un muscle pour provoquer la plus petite contraction de celui-ci.

D'après les indications de Lapicque[1], on se fixe comme intensité de courant le double de l'intensité minima capable de provoquer la contraction du muscle, la durée de passage

[1] Lapicque, L. : L'excitabilité en fonction du temps. Les Presses Universitaires, Paris, 1926.

étant illimitée. Cette intensité minima ou liminaire est ce que LAPICQUE appelle la rhéobase (c'est celle qui correspond au seuil de l'excitation).

En d'autres termes, la chronaxie est la durée minima de passage d'un courant qui, pour une intensité double de l'intensité rhéobasique, provoque la plus faible contraction, ou encore, comme il est facile de le montrer, c'est le temps pendant lequel on peut exciter le muscle avec le minimum d'énergie.

La chronaxie étant constante pour un muscle ou un nerf bien déterminé dans une espèce animale, et de plus, comme il y a isochronisme entre le nerf et le muscle d'un même système nervo-musculaire, sa détermination dans un tel système d'une part sur le nerf, d'autre part sur le muscle, peut donc nous permettre de voir la partie atteinte à la suite de l'ingestion d'un poison.

Si la substance toxique agit sur le nerf, la chronaxie de ce dernier devra varier ; si au contraire c'est le muscle qui est touché, sa chronaxie seule devra augmenter.

C'est ce que nous avons recherché, en nous adressant à des souris intoxiquées par l'écorce de la racine du Cnestis, et en faisant porter nos déterminations sur le système sciatique-muscle de la patte. Au total : Rechercher, par des mesures précises de chronaxie tant sur le système nerveux que sur le système musculaire, quel est celui sur lequel agit le corps considéré comme toxique, afin de classer le produit soit parmi les poisons nerveux, soit parmi les poisons musculaires, tel est le but du présent chapitre.

2° *Technique.*

La technique employée est celle de LAPICQUE. Un circuit est construit par une batterie d'accumulateurs, un réducteur de potentiel et une série de condensateurs (de deux micro-

farads à 0,01 mf) et deux électrodes impolarisées (constituées par des fils d'argent chlorurés). Dans le circuit se trouve un interrupteur permettant, dans une position de faire passer le courant du réducteur de potentiel dans le condensateur qui se trouve dans le circuit, dans une deuxième position de décharger le condensateur dans les électrodes.

L'animal présentant des symptômes nets d'empoisonnement est fixé sur un appareil de contention et légèrement anesthésié à l'éther.

a) On recherche alors un des nerfs sciatiques sous lequel on place les électrodes. On intercale dans le circuit un condensateur de grande capacité, deux microfarads par exemple, et on cherche, au moyen du réducteur de potentiel, le voltage le plus faible pour provoquer la plus petite contraction de la patte. La durée de décharge d'un condensateur est proportionnelle à sa capacité, donc le voltage correspondant à une grande capacité est le voltage rhéobasique.

Il ne reste qu'à doubler le voltage et chercher la plus petite capacité qui provoque une contraction des muscles. On a ainsi la valeur de la chronaxie nerveuse exprimée en microfarads.

b) Pour la détermination de la chronaxie musculaire, la même opération s'effectue en plaçant la masse des mucles de la patte sur les électrodes.

3° *Résultats expérimentaux.*

Nous avons consigné nos résultats expérimentaux dans les tableaux suivants. Toutes les valeurs de chronaxie tant nerveuse que musculaire sont exprimées en microfarads et afin de pouvoir comparer les valeurs trouvées, nous y avons fait figurer les chronaxies mesurées sur des animaux normaux.

Animal		Chronaxie des nerfs	Chronaxie du muscle
N° 1.	Normal	0,05	0,05
N° 2.	Id.	0,05	0,04
N° 3.	Intoxiqué	0,05	0,10
N° 4.	Id.	0,05	0,09
N° 5.	Id.	0,05	0,10

4° *Conclusions.*

Les résultats expérimentaux répondent d'eux-mêmes à la question posée, il est facile de voir, en effet, que la chronaxie du nerf n'a pas changé : 0 mf. 05 chez les animaux normaux ; 0 mf. 05 chez les animaux intoxiqués.

La chronaxie musculaire, au contraire, augmente dans la proportion de 1 à 2. L'isochronisme constant avant l'action de la substance toxique se trouve rompu.

La substance toxique étudiée est donc un poison musculaire et n'a aucune action sur le système nerveux.

CHAPITRE IV.

VALEUR TOXIQUE RELATIVE DE LA RACINE ET DE LA TIGE DU CNESTIS POLYPHYLLA ET DE LEURS DIFFÉRENTES PARTIES (ÉCORCE, BOIS).

Les expériences précédentes I, II, III et IV faites sur l'animal avec l'écorce de la racine montrent sa toxicité. Nous avons recherché si le bois de la racine était également toxique, et les mêmes recherches furent faites avec l'écorce et le bois de la tige.

Ces recherches de toxicité, indépendamment de leur intérêt propre, étaient en outre précieuses pour guider nos essais d'extraction du principe actif et les limiter aux seuls organes ou parties d'organes intéressants. Comme précédemment, nos expériences ont été faites sur le chien, le lapin et le cobaye.

1° *Expériences faites avec le bois de la racine.*

Expérience X. — Faite sur le chien.

Poids de l'animal ..... 5000 gr.

Quantité de bois donnée ... 50 gr. (soit 10 gr. par kg. de poids vif)

Trente heures seulement après l'ingestion les premiers symptômes d'intoxication apparaissent, puis se développent en tous points identiques à ceux relatés Expérience I. L'animal meurt 55 heures après l'ingestion du produit.

A l'autopsie : mêmes constatations macroscopiques. La vessie était vide.

Glucose dans le sang : 2,95 gr. p. 1000 cc.

Expérience XI. — Faite sur le lapin :

Poids de l'animal ..... 1600 gr.
Quantité de bois donnée ... 10 gr. (soit 6 gr. 20 par kg. de poids vif)

Apparition des symptômes 20 heures après ; même tableau d'intoxication et l'animal meurt 62 heures après l'ingestion du produit.

L'urine renferme : Glucose ..... 29,70 gr. p. 1000 cc.
Albumine ..... 1,25 gr. »
Acétone.

Glucose dans le sang : 2,48 gr. p. 1000 cc.

Expérience XII. — Faite sur le cobaye :

Poids de l'animal : 415 gr.

1re dose de bois donnée : 1 gr. — Aucun symptôme au bout de 5 jours.

2e dose de bois donnée : 2 gr. — Aucun symptôme au bout de 5 jours.

3e dose de bois donnée : 3 gr. — Aucun symptôme au bout de 5 jours.

4e dose de bois donnée : 4 gr. (soit 9 gr. 63 par kg. de poids vif). Aucun symptôme au bout de 5 jours.

Nous nous sommes arrêté à cette dose : elle représente en effet la dose maxima pouvant être donnée en une fois à un cobaye.

2° *Expériences faites avec l'écorce de la tige.*

Expérience XIII. — Faite sur le chien :

Poids de l'animal ..... 5200 gr.
Quantité d'écorce donnée ..... 25 gr. (soit 4 gr. 30 par kg. de poids vif)

Les symptômes d'intoxication sont en tout semblables à ceux précédemment décrits mais apparaissent 40 heures seulement après l'ingestion, et l'animal meurt 90 heures après avoir absorbé la drogue.

Dans l'urine on trouve : Glucose .... 48,70 gr. p. 1000 cc.
Albumine ... 1,40 gr. »
Acétone.

Dosage du gluzose dans le sang : 2,90 gr. p. 1000 cc.

Expérience XIV. — Faite sur le lapin.

Poids de l animal..... 1470 gr.
Quantité d'écorce donnée 5 gr. (soit 3 gr. 40 par kg. de poids vif)

Les symptômes apparaissent 30 heures et la mort survient 70 heures après l'ingestion.

Dans l'urine on trouve : Glucose .... 23 gr. p. 1000 cc.
Albumine ... 0,75 gr. »
Acétone.

Expérience XV. — Faite sur le cobaye.

La dose de 4 gr. d'écorce, qui représente la quantité maxima pouvant être donnée en une fois à un cobaye, n'a déterminé aucun symptôme.

3° *Expériences faites avec le bois de la tige.*

Expérience XVI. — Faite sur le chien.

Poids de l'animal ... 5480 gr.
Quantité de bois donnée 50 gr. (soit 9 gr. 12 par kg. de poids vif)

Cette quantité qui représente la dose maxima pouvant être donnée en une fois à un chien n'a déterminé aucun symptôme.

Expérience XVII. — Faite sur le lapin.

Poids de l'animal ..... 980 gr.
Quantité de bois donnée . 12 gr. (soit 12 gr .24 par kg. de poids vif)

Les symptômes apparaissent 25 heures et la mort survient 72 heures après l'ingestion.

L'urine renferme : Glucose ..... 14,30 gr. p. 1000 cc.
Albumine ..... 0,50 gr. »
Acétone.

Expérience XVIII. — Faite sur le cobaye.

Comme dans les expériences XII et XV, la dose maxima de 4 gr. ne détermine aucun symptôme.

4° *Doses léthales comparées de la racine et de la tige, et de leurs différentes parties.*

Pour compléter les indications fournies déjà par certaines des expériences précédentes, en ce qui concerne la valeur toxique relative des écorce et bois de la racine et de la tige, nous avons donné à ingérer des doses croissantes de ces produits à des lapins jusqu'à intoxication mortelle. Le lapin nous a paru l'animal de choix, plus sensible que le cobaye, et pouvant, plus facilement que le chien (particulièrement difficile à se procurer d'ailleurs), ingérer rapidement, en une fois en quelque sorte, une forte quantité de la drogue.

Voici les doses léthales observées :

1°. Racine :

a) *Ecorce.* — **Expérience XIX:**

Poids de l'animal .....1630 gr.
Dose léthale ..... 2 gr. (soit 1,22 gr. par kg. de poids vif).
Apparition des symptômes . 20 heures après l'ingestion
Mort ..... 60 » » »

Examen de l'urine : Glucose ... 25,30 gr. p. 1000 cc.
Albumine .. 1,25 gr. »
Acétone ; pas de pigments biliaires.

b) *Bois.* — **Expérience XX;**

Poids de l'aminal ..... 1850 gr.
Dose léthale ..... 6 gr. (soit 3,24 gr. par kg. de poids vif)
Apparition des symptômes . 26 heures après l'ingestion
Mort ..... 72 » » »

Examen de l'urine : Glucose .... 19,8 gr. p. 1000 cc.
Albumine ... 0,75 gr. »
Acétone ; pas de pigments biliaires.

2° Tige.

a) *Ecorce.* — **Expérience XIV** (déjà citée) :

Poids de l'animal ..... 1470 gr.
Dose léthale ..... 5 gr. (soit 3,40 gr. par kg. de poids vif)
Apparition des symptômes.. 30 heures après l'ingestion
Mort ..... 70 » » »

Examen de l'urine : Glucose .... 23 gr. p. 1000 cc.
Albumine ... 0,75 gr. »
Acétone ; pas de pigments biliaires.

b) *Bois.* — **Expérience XVII** (déjà citée) :

Poids de l'animal ..... 980 gr.
Dose léthale ..... 12 gr. (soit 12,24 gr. par kg. de poids vif)
Apparition des symptômes.. 25 heures après l'ingestion
Mort ..... 72 » » »

Examen de l'urine : Glucose .... 14,30 gr. p. 1000 cc.
Albumine ... 0,50 gr. »
Acétone ; pas de pigments biliaires.

5° *Conclusions.*

Des diverses expériences qui précèdent, découlent les conclusions suivantes :

Ecorce et bois de la racine et de la tige du Cnestis polyphylla renferment un même principe nocif. Ces différentes parties de la plante déterminent chez les animaux (chien, lapin, cobaye) qui en ingèrent en quantité suffisante une intoxication se traduisant, dans tous les cas, par de la paralysie des membres, des convulsions, avec hypersécrétion des glandes salivaires et lacrymales, de l'hyperglycémie, une forte glycosurie et de l'albuminurie.

Mais à poids égal, les différentes parties de la plante n'ont pas une égale toxicité :

Tout d'abord dans un même organe l'écorce est plus toxique que le bois : ainsi dans la racine, l'écorce est 2,65 fois plus toxique que le bois ;

dans la tige, l'écorce est 3,6 fois plus toxique que le bois. D'autre part, écorce et bois de la racine sont beaucoup plus toxiques que les parties correspondantes de la tige : ainsi l'écorce de la racine est 2,78 fois plus toxique que l'écorce de la tige, et le bois de la racine est 3,77 fois plus toxique le bois de la tige.

Et au total on peut résumer ainsi cette toxicité relative : L'écorce de la racine du Cnestis polyphylla apparaît 2,65 fois plus toxique que le bois de la racine et l'écorce de la tige (bois de la racine et écorce de la tige ayant sensiblement la même toxicité), et 10 fois plus toxique que le bois de la tige.

Le cobaye se montre moins sensible que le lapin et le chien à l'action de ce poison.

La dose léthale, ramenée au kg. de poids vif, est pour le lapin 1,20 gr. d'écorce et 3,25 gr. de bois de la racine, 3,40 gr. d'écorce et 12,25 gr. de bois de la tige.

Les symptômes d'intoxication apparaissent de 20 à 30 heures après l'ingestion de la drogue, et la mort survient au bout de 60 à 70 heures.

Troisième Partie.

ÉTUDE CHIMIQUE.

Essais préliminaires.

Nous avons effectué tout d'abord quelques essais préliminaires susceptibles de nous donner des indications d'ordre général et peut-être des directives pour nos recherches.

L'écorce a été soigneusement séparée du bois et chaque partie grossièrement pulvérisée.

Dix grammes de chaque partie sont mis à macérer séparément dans 100 cc. d'eau distillée, à l'étuve à 37° pendant cinq heures, puis on filtre. La macération de l'écorce donne un filtrat rouge-brun ; celle du bois un filtrat jaune-rougeâtre.

Sur l'un et l'autre nous avons effectué les essais suivants :

1° *Réaction au tournesol* :

Ecorce ..... faiblement acide
Bois..... faiblement acide

2° *Action de la chaleur* (ébullition) :

Ecorce ..... précipité
Bois..... précipité

3° *Acétate neutre de plomb* :

Ecorce ..... précipité abondant
Bois..... précipité moins abondant

4° *Sous-acétate de plomb*, ajouté au liquide surnageant le précipité plombique précédent :

Ecorce ..... léger trouble
Bois..... néant

5° *Liqueur cupro-alcaline* :

Ecorce ..... réduction à chaud
Bois..... réduction à chaud

6° *Liqueur cupro-alcaline, après hydrolyse acide* :

Ecorce .....réduction plus forte
Bois..... réduction plus forte

7° *Perchlorure de fer* :

Ecorce ..... précipité noir
Bois..... coloration, puis précipité noir

8° *Réactif de Millon* :

Ecorce ..... précipité grisâtre devenant rouge en chauffant légèrement
Bois..... précipité grisâtre devenant rouge en chauffant légèrement

9° *Acide picrique* :

Ecorce ..... précipité jaune
Bois..... précipité jaune

10° *Recherche d'oxydases et peroxydases* :

A quelques centicubes de filtrat placés dans un tube à essai, on ajoute un volume égal de solution aqueuse de gaïacol. Dans ces conditions, la solution contenant une oxydase rougit nettement. Si la solution contient une peroxydase, la couleur n'apparaît qu'après addition d'eau oxygénée.

Ecorce ..... présence de peroxydase
Bois..... ni oxydase, ni peroxydase

11° *Recherche de l'émulsine* :

Dans un flacon on met :

3 gr. environ de produit
15 à 20 cc. Eau distillée.
0 gr. 20 env. Amygdaline.

Dans l'atmosphère du flacon est suspendue, fixée au bouchon, une bande de papier picro-sodé de GUIGNARD, et le flacon est placé dans l'étuve à 37°. En présence d'émulsine, le papier picro-sodé rougit (formation d'ac. isopurpurique) et il se dégage une odeur d'essence d'amandes amères.

Ecorce ..... résultat positif
Bois..... résultat positif

12° *Recherche de l'amidon* :

2 gr. environ de produit sont mis à macérer dans l'eau distillée pendant deux heures, puis on passe à travers une mousseline.

Le liquide additionné de quelques gouttes de solution d'iodure de potassium et d'eau iodée devient bleu en présence d'amidon.

Ecorce ..... néant
Bois..... coloration bleuâtre.

Au total, les essais précédents indiquent dans la racine du Cnestis Polyphylla la présence des corps suivants, la plupart très banaux d'ailleurs et de toute évidence·

Ecorce :

Acides ou sels d'acides (1, 3).
Sucres réducteurs (5) et sucres non réducteurs, mais donnant des produits réducteurs après hydrolyse (6)
Matières albuminoïdes (2, 3, 8, 9)
Substances tanniques (7)
Diastases : Peroxydase (10), Emulsine (11)

Bois :

Acides ou sels d'acides (1,3)
Sucres réducteurs (5) et sucres hydrolysables (6)
Matières albuminoïdes (2, 3, 8, 9)
Substances tanniques (7)
Emulsine (11)
Amidon (12)

A la suite de ces essais préliminaires nous avons commencé la recherche du principe actif. Cette recherche a porté sur le bois de la racine, puisque d'une part les essais physiologiques nous ont montré qu'il était toxique, et que d'autre part c'était la portion de l'organe que nous possédions naturellement en plus grande quantité. L'écorce, très réduite, fut éventuellement réservée pour des recherches plus précises.

CHAPITRE PREMIER.

RECHERCHE DU PRINCIPE ACTIF DU CNESTIS POLYPHYLLA.

I. — RECHERCHE DES ALCALOÏDES.

1° *Méthode de Stass-Otto.*

Dans un ballon nous avons mis :

100 gr. de bois de la racine (pulvérisé).

400 cc. d'alcool à 90° acidulé avec 4 gr. d'acide tartrique. Le tout est placé dans l'étuve à 37° pendant 24 heures et agité de temps en temps. On filtre et le résidu est lavé sur le filtre avec de l'alcool tartrique.

Le filtrat ainsi obtenu, de couleur brun-rouge, est distillé sous pression réduite et la distillation est poussée jusqu'à consistance sirupeuse.

Au résidu sirupeux on ajoute 50-40 cc. d'alcool à 95° : il se forme dans ces conditions un trouble léger. Le liquide est filtré et distillé de nouveau. Cette addition d'alcool est répétée encore une fois, mais le liquide reste clair. Le résidu sirupeux obtenu en dernier ressort, après distillation, est additionné de 100 cc. d eau distillée : il se forme au sein du liquide une volumineuse floculation. On évapore au B. M. jusqu à réduction du volume à 20 cc. environ pour chasser

toute trace d alcool, puis on reprend par l'eau distillée et, sans filtrer, le tout est versé dans une ampoule à décantation. Le milieu est toujours acide.

On l'épuise à plusieurs reprises par de l éther exempt d'alcool. Les liquides éthérés réunis et évaporés au B. M. abandonnent un résidu sirupeux rougeâtre. Ce résidu ne donne aucun précipité avec les réactifs généraux des alcaloïdes (réactifs de Bouchardat, Dragendorff, Acide picrolonique) et d'ailleurs ne contient pas d'azote.

Après épuisement par l'éther, le liquide aqueux resté dans l'ampoule est épuisé par le chloroforme à deux reprises. Ce chloroforme d'épuisement, évaporé, ne laisse aucun résidu.

Le liquide aqueux est alors alcalinisé avec du carbonate de soude et épuisé successivement par l'éther, puis par le chloroforme : ni l'éther, ni le chloroforme ne laissent de résidu après évaporation.

La recherche des alcaloïdes par la méthode générale classique de Stass-Otto ayant donné des résultats négatifs, nous avons essayé la méthode utilisée pour l'extraction et le dosage de l'aconitine dans les préparations d'aconit, c'est-à-dire précipitation à l'état de silico-tungstate après extraction par l'eau azotique puis l'éther ammoniacal (procédé de G. Bertrand, appliqué par Ecalle).

2° *Méthode d'extraction par l'eau acidulée et l'éther ammoniacal, et précipitation par l'acide silicotungstique.*

Dans un ballon nous avons mis :

50 gr. de bois de la racine (pulvérisé),
250 cc. d'eau distillée,
10 cc. d'acide azotique au 1/10 e.

On le place à l'étuve à 37° pendant 24 heures en agitant de temps en temps comme précédemment, puis on filtre. Le filtrat jaune-rougeâtre, versé dans une ampoule à dé-

cantation, est agité avec un mélange de 5 cc. ammoniaque concentré + 100 cc. éther, puis abandonné au repos. Il se forme dans ces conditions un précipité de couleur rouille.

La solution ammoniacale est soutirée dans une autre ampoule à décantation et épuisée de nouveau par 50 cc. d'éther à deux reprises.

Les éthers réunis sont traités par un mélange de 10 cc. d'acide azotique dilué au 1/10 e. + 10 cc. d'eau distillée. On soutire dans une fiole conique la solution acide qui se sépare ; on lave l'éther à quatre reprises avec 20 cc. d'eau distillée chaque fois, que l'on fait couler ensuite dans la fiole conique. On porte finalement la fiole conique au B. M. pour chasser l'éther dissous. Après refroidissement, on verse dans la fiole : 15 cc. de solution d'acide silicotungstique et 20 cc. de l'acide azotique au 1/10 e, et le tout est chauffé à feu nu jusqu'à commencement d'ébullition, puis refroidi et abandonné au repos pendant 24 heures. Dans ces conditions les alcaloïdes, s'ils existent, précipitent à l'état de silicotungstates. Nous n'avons obtenu aucun précipité.

Nous avons alors tenté un dernier essai en faisant une macération du bois dans l'alcool non plus acide, mais ammoniacal, et en saturant l'alcaloïde possible par une quantité connue et en excès de liqueur acide titrée que l'on dose en retour.

C'est le procédé indiqué dans la Pharmacopée française pour l'extraction et le dosage des alcaloïdes dans la noix vomique.

3° *Méthode à l'alcool ammoniacal.*

Dans un ballon nous avons mis :

50 gr. de bois de la racine pulvérisée;
20 cc. d'alcool à 90°,
2,5 cc. d'ammoniaque diluée au demi.

Après 24 heures de séjour à l'étuve à 37°, on verse le tout (sans filtration) dans une ampoule à décantation, puis on ajoute 150 cc. d'eau distillée et 50 cc. de chloroforme. On agite quelques minutes et on abandonne le liquide jusqu'à séparation complète du chloroforme.

La couche chloroformique ainsi séparée est soutirée et le résidu aqueux ammoniacal restant dans l'ampoule est épuisé de nouveau à deux reprises par du chloroforme (15 cc. environ chaque fois). Les liquides chloroformiques sont réunis et distillés sous pression réduite, il reste un léger résidu résineux brun-rougeâtre.

Ce résidu est desséché dans l'étuve à 60° pour chasser toute trace d'ammoniaque, puis additionné de 5 cc. d'acide sulfurique N/10 et 50 cc. d'eau distillée, et chauffé au B. M pendant 30 minutes.

Dans ces conditions, l'acide dissout les alcaloïdes à l'état de sulfates et la résine reste insoluble. Au bout de 30 minutes de chauffage, on filtre dans une fiole conique, en ayant soin de lave le ballon et le filtre avec de l'eau distillée de façon à avoir un volume final de 100 cc. environ.

Au filtrat ainsi obtenu, on ajoute 25 cc. d'éther et X gouttes de réactif Iodéosine. La couche éthérée prend une couleur rose. On fait tomber goutte à goutte une solution de potasse N/100 en bouchant après chaque addition et en agitant. La réaction est terminée quand la couche inférieure aqueuse prend aussi une coloration rose.

En suivant cette technique nous avons obtenu les résultats suivants :

39 cc. de KOH N/100 sont écoulés jusqu'au terme de la réaction, c'est donc que 1,1 cc. de SO^4H^2 N/10 ont été antérieurement neutralisés par le résidu chloroformique.

Mais ce mode opératoire n'assure pas forcément la présence d'alcaloïdes dans la solution à titrer. En effet, si la solution à doser contient un corps basique non alcaloïdique, celui-ci saturera de même l'acide sulfurique. C'est pourquoi nous

n'avons pas conclu à la présence certaine d'alcaloïdes et nous avons contrôlé ces résultats de la façon suivante :

Une nouvelle macération de même quantité de produit avec le même dissolvant et dans les mêmes conditions fut préparée, puis traitée comme précédemment (épuisement par le chloroforme, distillation, etc....). Le résidu laissé après distillation est desséché à l'étuve à 60°, puis traité à trois reprises avec un mélange de 1 cc. d'acide azotique au 1/10 et 9 cc. d'eau distillée ; les liquides acides avec les particules qu'ils tiennent en suspension sont placés dans l'étuve à 37° pendant 40 heures, puis filtrés.

Les réactifs de Bouchardat et de Dragendorff ajoutés à une petite portion de filtrat n'ont produit ni précipité ni louche.

D'autre part le reste du filtrat additionné d'acide silicotungstique selon la technique précédemment indiquée (p. 43) n'a pas davantage donné de précipité de silicotungstate.

Ces résultats négatifs nous font conclure à l'absence d'alcaloïde dans le résidu en essai, et la cause de la saturation partielle de l'acide sulfurique était d'autre nature.

II. — Recherche des glucosides.

(Méthode biochimique de Bourquelot).

Contrairement aux alcaloïdes, les glucosides ne possèdent pas de réactifs généraux permettant de les découvrir et de les caractériser facilement dans les plantes. D'autre part, comme les méthodes d'extraction des glucosides sont très variées et comme il est difficile, en pratique, de les appliquer toutes successivement au même objet d étude, il s'ensuit que le résultat de la recherche d'un glucoside dans un végétal déterminé est subordonné aux hasards, heureux ou malheureux, de l'expérimentation suivie. Il est donc à peu près impossible, en présence d'un et même de

plusieurs résultats négatifs, de conclure valablement à l'absence de principes glucosidiques.

Nous savons toutefois que, par définition même, tout glucoside, quel qu'il soit, doit fournir par hydrolyse un ou plusieurs sucres réducteurs et que cette hydrolyse peut être produite soit par des acides dilués agissant à des températures plus ou moins élevées, soit par des diastases.

En réalité, si l'emploi des acides comme agents d'hydrolyse peut dans certains cas rendre quelques services au point de vue de la recherche des glucosides (par exemple lorsque l'aglycone est connu et peut être aisément caractérisé), une augmentation de sucre réducteur ainsi déterminée n'est en aucune façon un indice spécifique de la présence de glucosides : il existe en effet, dans les végétaux, un grand nombre de corps du groupe des glucosides (sucres et polysaccharides divers) qui, sous l'influence d'acides dilués, sont susceptibles de fournir des sucres réducteurs. Puis, outre qu'ils n'agissent pas spécifiquement, les acides, même dilués, peuvent présenter de réels inconvénients par suite de leur action trop violente, surtout à chaud, sur certains constituants fragiles des glucosides.

Par contre, les diastases constituent des agents hydrolysants spécifiques, n'exerçant aucune action nocive sur le glucoside ou ses produits d'hydrolyse, et c'est ainsi que leur usage a pu permettre l'établissement de méthodes de recherche, dites biochimiques, relativement simples et pouvant conduire à des conclusions très sûres.

Sans doute il n'existe pas une diastase spécifique pour l'ensemble des glucosides, mais on en connaît du moins pour certains glucosides ou pour des groupes de glucosides déterminés.

C'est surtout la méthode biochimique de recherche des glucosides dédoublables par l'*émulsine* qui a été jusqu'à présent employée et largement développée. Elle a été imaginée

en 1901 par BOURQUELOT[1]. L'émulsine est susceptible d'hydrolyser un grand nombre de glucosides connus, présentant tous ce caractère commun d'être lévogyres et de fournir du d. glucose dans leur dédoublement. Il en résulte que l'émulsine apparaît comme un réactif précieux pour la recherche de tout un groupe de glucosides naturels. Si, sous l'influence de cette diastase, il y a retour à droite de la déviation primitive, en même temps que production de sucre réducteur, c'est que la solution en essai renferme un de ces glucosides.

La technique est simple :

Etant donné la coexistence fréquente, non dans les mêmes cellules mais dans le même organe, du glucoside et de la distase susceptible de le dédoubler, il faut, dans la mesure du possible, n'opérer que sur des matérieux entiers et frais ; au cours de la dessiccation, la diastase peut en effet diffuser d'une cellule à l'autre et, venant ainsi au contact du glucoside, produire son dédoublement.

L'organe végétal est projeté dans l'alcool à 95° bouillant et contenant une petite quantité de carbonate de chaux en suspension pour saturer les acides végétaux capables d'agir sur les glucosides. L'ébullition est prolongée à reflux pendant 30 minutes : on détruit ainsi les ferments. (On peut faire agir l'alcool bouillant d'abord sur l'organe végétal aussi peu divisé que possible, puis sur l'organe convenablement broyé pour faciliter son épuisement).

Le liquide d'épuisement, filtré, est évaporé à sec en présence d'un peu de carbonate de calcium ; le résidu est repris par l'eau et généralement en quantité telle qu'il y ait un rapport déterminé entre le volume de la solution ainsi préparée et le poids de plante traitée : le plus souvent 100 cc. de solution correspondant à 100 gr. d'organe primitif. On peut déféquer par le sous-acétate de plomb, l'excès de plomb étant éliminé

---

[1] BOURQUELOT : Journ. Pharmacie et Chimie, 1901, t. 14, p. 481.

ensuite par l'hydrogène sulfuré, et décoloré au noir. On obtient ainsi, après filtration, une liqueur renfermant tout glucoside soluble dans l'eau ; on l'additionne d'un peu de toluène comme antiseptique.

On détermine alors la rotation polarimétrique de cette solution et y dose le sucre réducteur. Puis on l'additionne d'une petite quantité d'émulsine et place à l'étuve à 30-35°. Au bout d'un certain temps, on répète ces mêmes déterminations : s'il y a un glucoside dédoublable par l'émulsine, on constate un changement de rotation et une augmentation de sucre réducteur (on laisse le ferment agir jusqu'à ce que deux déterminations consécutives ne marquent plus de changement ; en général la réaction demande 2 à 3 jours, mais elle peut durer plus longtemps).

Toutefois l'émulsine peut contenir des traces d'une autre diastase, *l'invertine*, qui, en agissant sur des sucres dédoublables (saccharose et autres) contenus dans la solution, donnerait lieu à des interprétations erronées ou confuses d'où la recommandation de faire agir sur la solution d'abord de l'invertine [1], et lorsque son action est terminée (ce qui est attesté par l'invariabilité des pouvoirs rotatoire et réducteur), on place le flacon au B. M. bouillant pendant 10 minutes pour détruire le ferment, puis, après refroidissement, on ajoute l'émulsine.

Chaque glucoside ou polyose hydrolysable, pur, produit toujours le même ensemble de produits d'hydrolyse ; donc, pour chacun d'eux, le rapport entre le changement de déviation observé et l'augmentation de la teneur en sucre réducteur (exprimé en glucose) dans un volume déterminé sera constant : c'est ce que BOURQUELOT a nommé « *indice de réduction enzymolytique* », et il le définit ainsi : « le poids

[1] L'invertine est préparée à partir de levure de bière haute, très fraîche. La levure est tuée par une macération dans l'alcool fort et desséchée à l'étuve à 30° (Bourquelot et Herissey. Journ. de Pharmacie et Chimie, 1912, p. 246).

en milligrammes de produits réducteurs, exprimés en glucose, formés dans 100 cc. sous l'influence du ferment, pour un changement de rotation de 1 degré, observé à l'aide du tube de 2 décimètres [1]».

Guidé par les travaux de BOURQUELOT, nous avons pulverisé 100 gr. de bois de la racine et les avons mis à bouillir avec de l'alcool à 90° pendant 30 minutes dans un ballon muni d'un réfrigérant à reflux, afin de détruire les enzymes existant. Après refroidissement la solution alcoolique est séparée par passage à travers une mousseline, puis distillée sous pression réduite.

Le résidu de la distillation est repris par l'eau.

D'autre part, la poudre demeurée sur la mousseline est desséchée à l'étuve à 50° pour chasser l'alcool, puis introduite dans un ballon avec de l'eau distillée et le précédent résidu de la distillation repris par l'eau. Le tout est placé dans l'étuve à 37° pendant 24 heures, puis exprimé, filtré, et réduit au B. M. jusqu'au volume de 100 cc. correspondant à 100 gr. de plante.

Le liquide, de couleur jaune-brun, est déféqué avec le dixième de son volume de réactif de Courtonne (le précipité plombique est conservé pour la recherche des acides organiques, p. 75) ; l'excès de plomb est éliminé par l'hydrogène sulfuré, et on détermine le pouvoir rotatoire et le pouvoir réducteur du filtrat final avant et après addition d'invertine et d'émulsine.

Voici les résultats obtenus :

Examen polarimétrique :

Rotation initiale (l = 2)	+ 0° 4'
Rotation après action de l'invertine (4 jours) ...	0°
Rotation après action de l'émulsine (4 jours) ...	— 0° 30'

[1] BOURQUELOT : Journ. Pharmacie et Chimie, 1910, t. 2, p. 241.

Dosage des sucres réducteurs (méthode de BERTRAND) :

Sucre réducteur initial (exprimé en glucose) ...	0,145	gr. p. 100 cc.
Sucre réducteur après action de l'invertine	0,155	—
Sucre réducteur après action de l'émulsine	0,630	—

Avec l'écorce, traitée de même, les résultats furent de même ordre :

Examen polarimétrique :

Rotation initiale (1 = 2)	+ 0° 7'
Rotation après action de l'invertine (4 jours) ...	0°
Rotation après action de l'émulsine (4 jours) ...	— 0° 39'

Dosage des sucres réducteurs :

Sucre réducteur initial (exprimé en glucose) ...	0,220	gr. p. 100 cc.
Sucre réducteur après action de l'invertine	0,240	—
Sucre réducteur après action de l'émulsine	0,815	—

Une poudre fermentaire, constituée par le bois et l'écorce pulvérisés épuisés par l'alcool à froid, a donné des résultats sensiblement semblables.

Tout d'abord les différences de pouvoirs rotatoire et réducteur avant et après l'action de l'émulsine sont faibles, mais cela ne saurait nous étonner : en effet, si réellement la plante renferme un glucoside, comme elle contient aussi de l'émulsine (nous l'avons constaté dans nos essais préliminaires), le dédoublement du glucoside a pu en grande partie se produire au cours de la dessiccation.

Mais il y a plus : on voit que la solution initiale est légèrement dextrogyre, puis qu'il n'y a pas, sous l'influence de l'émulsine, accentuation vers la droite de la rotation polarimétrique primitive, mais au contraire légère déviation à gauche ; pourtant il y a parallèlement augmentation du pouvoir réducteur. A-t-on affaire à un glucoside à sucre lévogyre, et que décompose l'émulsine? C'est possible. Il se peut également que la plante renferme des sucres du genre du mélibiose et du manninotriose dont l'hydrolyse (due à des ferments accom-

pagnant l'émulsine), accentuant la rotation dans le sens lévogyre, masque le dédoublement du glucoside qui existe en très petite quantité.

Quoi qu'il en soit, étant donné le changement de rotation après l'action de l'émulsine, il est permis de penser que la plante possède un glucoside. Est-ce le principe toxique, lequel, après dédoublement diastasique, laisse un aglycone toxique? On ne saurait répondre qu'après extraction du glucoside même, et l'étude du Cnestis polyphylla doit, à ce point de vue, être reprise sur des organes frais stabilisés.

III. — Recherche de la toxicité de divers extraits et de la drogue épuisée correspondante.

Afin de serrer de plus près le problème de l'extraction optima du principe actif, nous avons jugé bon d'épuiser la drogue par divers solvants, puis de faire ingérer à des lapins (exceptionnellement à des cobayes) les extraits obtenus et les produits épuisés. Peut-être par là-même obtiendrions-nous aussi des indications complémentaires sur la nature chimique du toxique.

Nous indiquerons tout d'abord la préparation des divers extraits, puis les expériences sur l'animal.

1° *Préparation des divers extraits.*

C'est le bois de la racine qui servit aux divers épuisements ; quelques-uns toutefois furent effectués dans d'autres conditions avec l'écorce de la racine et de la tige : nous les indiquerons tout d'abord.

A. — Avec l'écorce de la racine et de la tige.

N° 1. *Extrait aqueux à chaud.* — 25 gr. d'écorce de la racine, pulvérisée, sont mis à macérer dans de l'eau distillée,

à l'étuve à 37°, pendant 24 heures ; puis on porte à l'ébullition tranquille que l'on maintient 4 heures dans un ballon muni d'un réfrigérant ascendant. On exprime, filtre et évapore jusqu'au volume de 25 cc. Le liquide ainsi obtenu est de couleur brun-noirêtre et a une saveur astringente.

N° 2. *Extrait aqueux chlorhydrique* (consécutif à l'épuisement par l'eau). — L'écorce épuisée par l'eau est mise à macérer, à l'étuve à 37° pendant 5 heures, avec 100 cc. d'eau chlorhydrique à 1 %, et cela à cinq reprises successives. Les liquides chlorhydriques réunis sont neutralisés par la soude et évaporés au B. M. jusqu'à siccité. On obtient ainsi une poudre brune.

N° 3. *Extrait aqueux sodique* (consécutif aux deux épuisements précédents). — L'écorce épuisée par l'eau et l'eau chlorhydrique est traitée à cinq reprises, comme précédemment et dans les mêmes conditions, par de l'eau renfermant 1 p. 1000 de soude caustique. Les liquides alcalins réunis sont évaporés de même à siccité, après neutralisation par l'acide chlorhydrique, et abandonnent ainsi une poudre noirâtre.

N° 4 et 4 *bis*. *Ectrait alcoolique à chaud*. — 50 gr. d'écorce de racine et d'écorce de tige sont épuisés séparément par l'alcool bouillant pendant 8 heures, dans un ballon muni d'un réfrigérant à reflux et chauffé au bain de sable. L'alcool est ensuite éliminé par distillation sous pression réduite et évaporation dans le vide. Il reste une masse noire inodore et insipide.

B. — Avec le bois de la racine.

N° 5. *Extrait aqueux à* 37°. — 100 gr. de bois pulvérisé sont mis à macérer dans de l'eau distillée, à l'étuve à 37°, pendant 48 heures ; puis on exprime, filtre et évapore jus-

qu'au volume de 100 cc. Le liquide ainsi obtenu est jaune-foncé, inodore et a une saveur astringente.

N° 6. *Extrait aqueux à* 100° (consécutif à l'épuisement à 37°). — Le bois précédemment épuisé est traité par de l'eau distillée à l'ébullition pendant 8 heures dans un ballon muni d'un réfrigérant ascendant, puis on exprime, filtre et concentre jusqu'au volume de 100 cc. Le liquide obtenu est semblable au précédent.

N° 7. *Extrait alcoolique à froid* (consécutif aux deux épuisements précédents). — Le bois ainsi épuisé par l'eau à froid et à chaud est desséché à l'étuve à 37°, mis dans un percolateur, humecté avec une quantité suffisante d'alcool à 90°, puis abandonné pendant 24 heures. Au bout de ce temps, on lixivie (technique rapide de BRIDEL)[1] et pousse la percolation jusqu'à obtention d'un liquide incolore. L'alcool est éliminé par distillation sous pression réduite, puis évaporé au B. M. Le résidu, de couleur brun-foncé, est inodore et insipide.

N° 8. *Extrait aqueux chlorhydrique.* — 50 gr. de bois pulvérisé sont mis à macérer à l'étuve à 37° pendant 5 heures avec 100 cc. d'eau chlorhydrique à 1 %, et cela à cinq reprises successives, comme il a été fait avec l'écorce (n° 2).

N° 9. *Extrait aqueux sodique.* — 50 gr. de bois pulvérisé sont traités comme plus haut en remplaçant l'eau chlorhydrique par de l'eau renfermant 1 p. 1000 de soude caustique.

N° 10. *Extrait chloroformique.* — 50 gr. de bois pulvérisé sont épuisés par le chloroforme dans un appareil de Soxhlet pendant 8 heures. Après élimination de chloroforme (par distillation puis évaporation dans le vide) on obtient une masse résineuse jaunâtre inodore et insipide.

---

[1] BRIDEL : Durée de la percolation. Journ. Pharmacie et Chimie, 1925, T. II, p. 49 et 476.

N° 11. *Extrait benzénique.* — Même technique que pour l'extrait chloroformique, et le produit obtenu est semblable.

N° 12. *Extrait éthéré.* — Même technique que pour l'extrait chloroformique, et le produit obtenu est semblable.

A noter qu'aucun des extraits alcooliques, éthéré, chloroformique, et benzénique, ne précipite par les réactifs de Bouchardat et de Dragendorff. D'ailleurs la recherche de l'azote (par transformation en cyanure au moyen de sodium) [1] fut toujours négative.

2° Essais sur les animaux.

Expérience XXI — *Extrait aqueux n°* 1. — Essai sur le lapin.

Poids de l'animal	1210 gr.	
Quantité d'extrait donné	20 cc. (= 20 gr. écorce)	
Apparition des symptômes	4 jours	après l'ingestion
Mort	6 —	—
Examen de l'urine :Glucose ...	23,30 gr. p. 1000 cc.	(Acétone)
Albumine ..	1 gr.	»

Expérience XXII — *Ecorce épuisée par l'eau* (n° 1). — Essai sur le cobaye.

Poids de l'animal	415 gr.	
Quantité d'écorce donnée	4 gr.	
Apparition des symptômes	3 jours	après l'ingestion
Mort	5 —	—

Expérience XXIII — *Extrait aqueux chlorhydrique n°* 2. — Essai sur le lapin.

Poids de l'animal	1220 gr.
Quantité d'extrait donnée.....	25 gr. d'écorce

Aucun symptôme au bout de 7 jours.

Expérience XXIV — *Ecorce épuisée par l'eau, puis l'eau chlorhydrique* (N° 2). — Essai sur le cobaye.

Poids de l'animal	420 gr.
Quantité d'écorce donnée	4 gr.

[1] G. Bertrand et Thomas : Guide pour les manipulations de Chimie biologique, Ed. 1920, p. 4.

Des symptômes d'intoxication apparaissent au bout de 5 jours, mais 3 jours après l'animal est rétabli.

Expérience XXV — *Extrait aqueux sodique n°* 3. — Essai sur le lapin.

Poids de l'animal ..... 1160 gr.
Quantité d'extrait donnée..... 25 gr. d'écorce
Aucun symptôme au bout de 7 jours.

Expérience XXVI — *Ecorce épuisée par l'eau, puis l'eau chlorhydrique, puis l'eau sodique* (n° 3). — Essai sur le cobaye.

Poids de l'animal ..... 415 gr.
Quantité d'écorce donnée ..... 4 gr.
Mêmes résultats que dans l'expérience XXIV.

Expérience XXVII — *Extrait alcoolique* n° 4 (écorce de la racine). — Essai sur le lapin.

Poids de l'animal ..... 1320 gr.
Quantité d'extrait donnée..... 10 gr. d'écorce
Aucun symptôme au bout de 5 jours.
Quantité d'extrait donnée..... 25 gr. d'écorce
Apparition des symptômes .... 48 heures après l'ingestion
Mort ..... 60 — —
Examen de l'urine : Glucose ... 30 gr. p. 1000 cc. (Acétone)
Albumine .. 1,75 gr. —

Expérience XXVIII — *Extrait alcoolique n° 4 bis* (écorce de la tige.) — Essai sur le lapin.

Poids de l'animal ..... 1230 gr.
Quantité d'extrait donnée..... 50 gr.
Apparition des symptômes .... 3 jours après l'ingestion
Mort ..... 5 — —
Examen de l'urine : Glucose ... 12,20 gr. p. 1000 cc. (Acétone)
Albumine .. traces
Glucose dans le sang ..... 2,46 gr. —

Expérience XXIX — *Ecorce épuisée par l'alcool* (n°4). — Essai sur le lapin.

Poids de l'animal ..... 1280 gr.
Quantité d'écorce donnée ..... 5 gr.
Apparition des symptômes .... 30 heures après l'ingestion
Mort ..... 80 — —
Examen de l'urine : Glucose ... 4,55 gr. p. 1000 cc.
Albumine .. 0,50 gr. »

Expérience XXX — *Extrait aqueux* (*à* 37°) *n*° 5. — Essai sur le lapin.

Poids de l'animal ..... 1265 gr.
1re Quantité d'extrait donnée .. 25 cc. (Correspondant à 25 gr. de bois)

Aucun symptôme au bout de 5 jours.

2e Quantité d'extrait donnée .. 50 cc.
Apparition des symptômes .... 4 jours après l'ingestion
Mort ..... 8 — —
Examen de l'urine : Glucose ... 17,60 gr. p. 1000 cc. (Acétone)
Albumine .. 1 gr. »

Expérience XXXI — *Extrait aqueux* (*à* 100°) *n*° 6. — Essai sur le lapin.

Poids de l'animal ..... 1100 gr.
Quantité d'extrait donnée..... 50 cc. (= 50 gr. de bois)

Aucun symptôme au bout de 7 jours.

Expérience XXXII — *Extrait alcoolique à froid n*° 7. — Essai sur le lapin.

Poids de l'animal ..... 1175 gr.
Quantité d'extrait donnée..... 50 cc. (= 50 gr. de bois)

Légers symptômes d'intoxication au bout de 4 jours, mais 3 jours après l'animal est rétabli.

Expérience XXXIII — *Bois épuisé par l'eau chlorhydrique* (*n*° 8). — Essai sur le lapin.

Poids de l'animal ..... 1280 gr.
Quantité de bois donnée ..... 10 gr.
Apparition des symptômes .... 20 heures après l'ingestion
Mort ..... 65 — —
Examen de l'urine : Glucose ... 26,4 gr. p. 1000 cc. (Acétone)
Albumine .. 1 gr. —
Glucose dans le sang ..... 2,60 gr.

Expérience XXXIV — *Bois épuisé par l'eau sodique* (*n*° 9). — Essai sur le lapin.

Poids de l'animal ..... 1200 gr.
Quantité de bois donnée ..... 10 gr.
Apparition des symptômes .... 20 heures après l'ingestion
Mort ..... 55 — —
Examen de l'urine : Glucose ... 21 gr. p. 1000 cc. (Acétone)
Albumine .. 2,50 gr. —

Expérience XXXV — *Bois épuisé par l'alcool bouillant* (pendant 8 heures dans l'appareil de Kumagawa). — Essai sur le lapin.

Poids de l'animal ..... 1240 gr.
Quantité de bois donnée ..... 10 gr.

Les symptômes d'intoxication n'apparaissent qu'au quatrième jour après l'ingestion et sont moins marqués qu'à l'ordinaire Toutefois l'animal ne se rétablit pas et meurt au huitième jour.

Examen de l'urine : Glucose ... 3,55 gr. p. 1000 cc. (Acétone).
Albumine .. 0,25 —
Glucose dans le sang ..... 2,29 —

Expérience XXXVI — *Extrait chloroformique n°* 10. — Essai sur le lapin.

Poids de l'animal ..... 1360 gr.
Quantité d'extrait donnée.... = 50 gr. de bois

Légers symptômes d'intoxication au bout de 4 jours, mais 2 jours après l'animal est rétabli.

Expérience XXXVII — *Bois épuisé par le chloroforme* (*n°* 10). — Essai sur le lapin.

Poids de l'animal ..... 1340 gr.
Quantité de bois donnée ..... 10 gr.
Apparition des symptômes .... 20 heures après l'ingestion
Mort ..... 48 — —
Examen de l'urine : Glucose ... 24,20 gr. p. 1000 cc. (Acétone)
Albumine .. 1 —

Expérience XXXVIII — *Extrait benzénique n°* 11. — Essai sur le lapin.

Poids de l'animal ..... 1180 gr.
Quantité d'extrait donnée.... = 50 gr. de bois

Aucun symptôme au bout de 7 jours.

Expérience XXXIX — *Bois épuisé par la benzine* (*n°* 11). — Essai sur le lapin.

Poids de l'animal ..... 1265 gr.
Quantité de bois donnée ..... 10 gr.
Apparition des symptômes .... 20 heures après l'ingestion
Mort ..... 48 — —
Examen de l'urine : Glucose ... 19,80 gr. p. 1000 cc. (Acétone)
Albumine .. 0,75 gr. —
Glucose dans le sang ..... 2,56 gr. —

Expérience XL — *Extrait éthéré n°* 12. — Essai sur le lapin.
Poids de l'animal ..... 1175 gr.
Quantité d'extrait donnée.... = 50 gr. de bois
Aucun symptôme au bout de 7 jours.

Expérience XLI — *Bois épuisé par l'éther* (*n°* 12). — Essai sur le lapin.
Poids de l'animal ..... 1420 gr.
Quantité de bois donnée ..... 10 gr.
Apparition des symptômes .... 20 heures après l'ingestion
Mort ..... 48 — —
Examen de l'urine : Glucose ... 25,30 gr. p. 1000 cc. (Acétone)
Albumine .. 1,25 gr. —
Nous avons également donné à ingérer du bois épuisé par l'éther de pétrole dans un appareil de Soxhlet pendant 8 heures : les résultats obtenus, consignés dans l'expérience XLII, montrent qu'il n'avait pas davantage perdu sa toxicité.

Expérience XLII. — *Bois épuisé par l'éther de pétrole*. — Essai sur le lapin.
Poids de l'animal ..... 1150 gr.
Quantité de bois donnée ..... 10 gr.
Apparition des symptômes .... 20 heures après l'ingestion
Mort ..... 45 — —
Glucose dans l'urine ..... 16,50 gr. p. 1000 cc. (Acétone)
Glucose dans le sang ..... 2,65 —

Tous ces essais sur les animaux et les résultats obtenus sont rassemblés dans le Tableau récapitulatif des pages ..

3° *Conclusions.*

Des résultats obtenus dans les diverses expériences qui précèdent nous pouvons déduire les conclusions suivantes :

Aucun des solvants employés, eau, eau acidulée par l'acide chlorhydrique, eau alcalinisée par la soude, alcool, chloroforme, benzène, éther, éther de pétrole, agissant seuls ou successivement, n'arrivent à enlever complètement à l'écorce ou au bois du Cnestis polyphylla leur toxicité, même en les faisant agir à la température d'ébullition pendant un temps prolongé (8 heures).

Ecorce et bois, en effet, demeurent encore toxiques après ces divers épuisements.

Vis-à-vis du principe actif, l'eau à 100° n'a pas une action dissolvante supérieure à l'eau à 37°, puisqu'elle n'enlève rien de toxique au bois préalablement épuisé par l'eau à 37° (Expér. XXX et XXXI). De même l'acidification ou l'alcalinisation de l'eau ne paraissent pas modifier grandement dissolvant (Expér. XXIII et XXV).

D'autre part la température d'ébullition ne détruit pas le principe toxique (Expér. XXI) : ce n'est donc pas une toxine végétale.

L'alcool semble être le meilleur dissolvant : il enlève encore du principe toxique à la plante déjà épuisée par l'eau (Expér. XXXII), et l'extrait alcoolique détermine une intoxication plus rapide, toutes choses égales d'ailleurs, que l'extrait aqueux (Expér. XXI et XXVII).

L'extrait chloroformique présente une certaine toxicité (Expér. XXXVI) : le principe toxique est donc partiellement soluble dans le chloroforme. Mais il semble insoluble ou, en tout cas, peu soluble dans la benzine, l'éther et l'éther de pétrole (Expér. XXXVIII, XL, XLII).

D'autre part l'absence d'azote dans les extraits alcooliques chloroformique, éthéré et benzénique semble bien confirme qu'on n'a pas affaire à un alcaloïde.

Et il ne semble pas davantage que l'on ait affaire à une lactone comme la santonine, ou à un produit non sérié comme certains principes amers (absinthine, quassine, ...) qui, sans doute, se seraient dissous dans un des divers solvants employés d'où ils auraient cristallisé.

Il est plus vraisemblable de penser qu'il s'agit d'un glucoside en grande partie décomposé, mais dont les produits de dédoublement sont également toxiques. A ce point de vue, des recherches sur la plante préalablement stabilisée demeurent nécessaires.

Tableau récapitulatif.

Produits ingérés par les animaux	Numéros des Expériences	Résultats		
		Chiens	Lapins	Cobayes
Ecorce de la Racine.				
Ecorce naturelle	1-2-3	++	++	++
Ecorce épuisée par l'eau à 37°, puis à l'ébullition	22			++
Ecorce épuisée par l'eau, puis l'eau chlorhydrique	24			+
Ecorce épuisée par l'eau, puis l'eau chlorhydrique, puis l'eau sodique	26			+
Ecorce épuisée par l'alcool bouillant	29		++	
Extrait aqueux	21		++	
Extrait aqueux chlorhydrique	23		—	
Extrait aqueux sodique	25		—	
Extrait alcoolique	27		++	
Bois de la Racine.				
Bois naturel	10-11-12	++	++	—
Bois épuisé par l'eau chlorhydrique	33		++	
Bois épuisé par l'eau sodique	34		++	
Bois épuisé par l'alcool bouillant (ap. Kumagawa)	35		++	
Bois épuisé par le chloroforme (ap. Soxhlet)	37		++	
Bois épuisé par la benzine (ap. Soxhlet)	39		++	
Bois épuisé par l'éther (ap. Soxhlet)	41		++	
Bois épuisé par l'éther de pétrole (ap. Soxhlet)	42		++	
Extrait aqueux à 37°	30		++	
Extrait aqueux à 100°, consécutif à l'épuisement à 37°	31		—	
Extrait alcoolique à froid, consécutif aux deux épuisements aqueux	32		+	

Produits ingérés par les animaux	Numéros des Expériences	Résultats		
		Chiens	Lapins	Cobayes
Extrait chloroformique	36		+	
Extrait benzénique	38		—	
Extrait éthéré [1]	40		—	
Ecorce de la Tige				
Ecorce naturelle	13–14–15	++	++	—
Extrait alcoolique (à chaud)	28		++	
Bois de la Tige.				
Bois naturel	16–17–18	—	+ +	—

[1] L'extrait éthéré obtenu dans la recherche des alcaloïdes par la méthode de Stass-Otto (p. ...) et donné à ingérer à un lapin n'avait de même provoqué aucun symptôme d'intoxication.

Explication des signes :

++ Symptômes nets d'intoxication suivis de mort.
+ Symptômes nets d'intoxication non suivis de mort.
— Aucun symptôme.

Chapitre II.

COMPOSITION CHIMIQUE DE LA RACINE DU CNESTIS POLYPHYLLA.

Notre analyse portera d'abord et surtout sur le bois, puis sur l'écorce. Les matières minérales toutefois seront caractérisées dans l'organe complet (bois et écorce).

A. — Analyse du bois.

I. — *Lipides.*

Pour étudier les lipides, nous les avons extraits comparativement avec l'éther de pétrole dans un appareil Soxhlet, selon le procédé classique, et avec l'alcool à 95° bouillant (technique de Schimidzu) dans l'appareil de Kumagawa-Suto, opérant dans les deux cas sur le même poids de plante préalablement pulvérisée et desséchée à l'étuve à 55-60°. Le dosage fut fait ensuite, dans les deux cas également, d'après la méthode de saponification de Kumagawa-Lemeland.

Dans ces conditions, on se rend compte d'une part de la valeur relative des deux modes d'extraction, et d'autre part aussi de la valeur absolue de la méthode au Soxhlet, l'extrait brut obtenu dans cet appareil au moyen de l'éther de pétrole

ou de l'éther éthylique étant communément considéré comme représentant le poids des matières grasses.

Voici, rappelée dans ses traits essentiels, la technique de ces opérations :

1° *Epuisement* —

a) *Epuisement à l'éther de pétrole* (dans l'appareil de Soxhlet). Cet épuisement, fait au B. M. électrique avec de l'éther de pétrole à point d ébullition au-dessous de 70°, est poursuivi pendant 8 heures. L'éther de pétrole fut ensuite éliminé par distillation sous pression réduite et dessication à 50° dans le vide jusqu·à poids constant.

b) *Epuisement à l'alcool à 95° bouillant* (dans l'appareil de Kumagawa-Suto). L'appareil de Kumagawa-Suto diffère du type Soxhlet en ce que la cartouche renfermant le produit à épuiser est placée dans le col du ballon, c est-à-dire dans les vapeurs mêmes du solvant, et l'épuisement se fait donc à la température d'ébullition de celui-ci. L'appareil est chauffé au bain de sable et l'extraction a été poursuivie également pendant 8 heures. Le liquide est versé ensuite dans un petit ballon taré et distillé sous pression réduite, puis le résidu est desséché comme précédemment à 50° dans le vide jusqu'à poids constant.

De chacun des résidus ainsi obtenus (résidu pétrolique et résidu alcoolique) sont extraits le saponifiable (acides gras) et l'insoponifiable (cire, phytostérol...).

2° *Saponification.* — Dans le ballon renfermant l'extrait (pétrolique ou alcoolique) on verse 25 cc. de potasse alcoolique 2 N. et on chauffe au réfrigérant à reflux pendant 2 heures. On ajoute ensuite 20 cc. d'eau distillée (pour abaisser le titre alcoolique à 50° environ), et on chauffe à nouveau jusqu'à clarification complète, puis laisse refroidir.

3° *Extraction de l'Insaponifiable, et dosage du phytostérol.* — La solution alcaline alcoolique, versée dans une ampoule à décantation, est épuisée à trois reprises avec de l'éther de

pétrole à point d'ébullition au-dessous de 70°, en utilisant successivement 40, 35, 25 cc. de solvant. Après chaque agitation on laisse reposer jusqu'à parfaite séparation, et recueille dans une même ampoule les solutions éthérées que l'on agite avec de l'eau distillée ; cette eau, soutirée, est ajoutée à la solution alcoolique alcaline : celle-ci renferme le saponifiable, tandis que l'insaponifiable se trouve dans la solution éthérée.

La solution éthérée est distillée au B. M. à siccité, en s'aidant du vide. Le résidu est repris par 70 cc. d'éther de pétrole à point d'ébullition au-dessous de 50°, et après repos de quatre heures pour séparer les impuretés, on filtre sur sable-amiante dans un petit ballon taré ; on évapore dans le vide jusqu'à poids constant et on pèse : on a ainsi le poids le l'insaponifiable total.

Dans l'insaponifiable nous avons caractérisé le phytostérol par la réaction de LIEBERMANN-BURCHARD. Un peu d'insaponifiable est dissous dans 50 cc. de chloroforme, puis on ajoute 2 cc. d'anhydride acétique et III gouttes d'acide sulfurique : on obtient une belle coloration verte, indiquant la présence de phytostérol.

Pour le doser, nous avons employé la méthode colorimétrique de GRIGAUT basée sur la réaction de Liebermann ci-dessus mentionnée et en comparant la couleur obtenue avec celle d'une solution type de cholestérol additionnée des mêmes réactifs [1].

4° *Extraction des acides gras.* — La solution alcoolique alcaline dont on a extrait l'insaponifiable est acidulée par addition d'acide chlorhydrique, et les acides gras ainsi libérés se trouvant dans une solution alcoolique dont le titre a été abaissé par l'acide et par l'eau à 25° environ passent facilement dans l'éther de pétrole (à P. E. au-dessous de 70°) avec

[1] Dosage colorimétrique de la cholestérine par GRIGAUT : Journ. Phie et Chie 1914, 7e série, p. 146.

lequel on procède, comme précédemment, à trois épuisements. Puis les liquides éthérés réunis sont lavés à l'eau, pour enlever l'acide entraîné, et évaporés à sec ; le résidu est repris par l'éther de pétrole (à P. E. au-dessous de 50°), on filtre, évapore et pèse, comme il a été fait pour l'insaponifiable. On a ainsi le poids des acides gras.

Les résultats expérimentaux sont groupés dans les Tableaux suivants :

TABLEAU I. — Quantité d'Insaponifiable et d'Acides gras présents dans l'extrait alcoolique et dans l'extrait pétrolique

	Extrait alcoolique (appareil de Kumagawa-Suto)	Extrait pétrolique (appareil de Soxhlet)
Poids de plante employé	100 gr.	100 gr.
Extrait total brut	3 gr. 51	0 gr. 27
Insaponifiable	0,18	0,12
Phytostérol	0,00454	0,00302
Acides gras	0,15	0,08
Graisses neutres correspondantes (Ac. gras × 1,046)	0,157	0,0837
Somme Insaponifiable + Ac. gras	0,33	0,20
Somme Insaponifiable + Graisses	0,337	0,2037

TABLEAU II. — Proportion d'Acides gras et d'Insaponifiable non extraits par l'éther de pétrole dans l'appareil de Soxhlet.

	Extraction par l'alcool bouillant (app. Kumaga-Suto)	Extraction par l'ether de pétrole (app. Soxhlet)	Proportion non extraite par l'éther de pétrole
Acides gras	0 gr. 15	0 gr. 08	46,6 %
Insaponifiable ..	0,18	0,12	33,3 %
Phytostérol	0,00454	0,00302	33,5 %

On voit que les quantités d'acides gras et d'insaponifiable obtenues par la méthode d'extraction à l'alcool bouillant dans l'appareil de Kumagawa-Suto sont beaucoup plus élevées que celles obtenues par extraction à l'éther de pétrole dans l'appareil Soxhlet, la perte atteignant 46,6 pour 100 gr. de plante. Ces résultats, joints à ceux obtenus déja par INABA [1] avec des céréales, par M. TERROINE [2] et M. LOBSTEIN [3] avec divers microorganismes, produits végétaux et drogues, montrent que l'emploi de l'alcool bouillant appliqué par les chimistes japonais, KUMAGAWA et SUTO et leurs élèves, aux tissus animaux est non seulement applicable de même mais recommandé pour l'extraction complète des lipides dans les tissus végétaux.

D'autre part on voit aussi que le poids total de l'extrait pétrolique brut, considéré classiquement comme représentant les lipides bien que renfermant des corps autres (car l'éther de pétrole, comme l'éther éthylique, le chloroforme ou la benzine ne sauraient être des solvants exclusifs des graisses), est loin de représenter le poids des lipides : en effet la somme de l'insaponifiable et des graisses neutres (celles-ci obtenues en multipliant le poids des acides gras par le cœfficient 1.046 qu'indique Kumagawa) est de 0 gr. 337, alors que le poids de l'extrait pétrolique brut est 0 gr. 27, soit une différence en moins de 20 %.

Caractères des Acides gras :

1° Point de fusion (déterminé au bain de mercure) : 39°.

2° Indice de réfraction : Etant donnée la très petite quantité d'acides gras que nous avons obtenue nous ne pou-

[1] INABA : Bioch. Zeistschr., 1908, VII, p. 348.

[2] TERROINE (et ses élèves) : Annales des falsifications, 1927, p. 79.

[3] LOBSTEIN : Recherches biochimiq. sur le Bac. tuberculeux (Thèse Doct. ès sc., 1922) ; et avec ses élèves : Analyse de diverses drogues (Thèses de Doct. en pharm., Strasbourg).

vions en déterminer l'indice de réfraction au moyen du réfractomètre de Féry ; d'autre part l'échelle du Butyroréfractomètre de Zeiss dont nous disposions, et qui n'exige que très peu de substance, ne correspondait pas à notre produit. Tout ce qu'il nous est permis de dire c'est que les acides gras obtenus ont un indice de réfraction supérieur à 1,4964.

3° Pour la même raison il nous a été impossible de déterminer l'Indice d'iode.

II. — *Glucides.*

1° *Détermination des divers sucres.*

Nous avons tenté de déterminer la nature des sucres renfermés dans la plante.

Dans ce but, 50 gr. de racine pulvérisée sont mis à macérer avec de l'eau distillée dans l'étuve à 37° pendant 48 heures, puis on passe à travers une mousseline, exprime et filtre. Le filtrat est additionné d'acétate neutre de plomb pour précipiter les acides organiques, tanins, matières colorantes, etc.. (ce précipité plombique est joint à celui déjà obtenu et conservé lors de la recherche des glucosides).

On filtre à nouveau et le filtrat chauffé est traité par un courant d'hydrogène sulfuré pour éliminer le plomb. On sépare le sulfure de plomb par filtration et on lave le filtre à l'eau distillée.

Le liquide est débarrassé de l'hydrogène sulfuré par un courant d'acide carbonique, puis neutralisé par du carbonate de soude. La liqueur légèrement jaunâtre finalement obtenue est évaporée au B. M. jusqu'à consistance sirupeuse. Ce sirop de couleur brun-foncé contient outre les sucres d'autres corps, comme la gomme, qui peuvent masquer les réactions de coloration et empêcher la détermination des sucres.

Pour isoler ceux-ci et les obtenir aussi purs que possible, nous avons ajouté au résidu sirupeux trois fois son volume d'un

mélange éthéro-alcoolique (1 p. éther et 2 p. alcool à 95°), puis chauffé au B. M. électrique dans un ballon muni d'un réfrigérant ascendant. Cette opération fut répétée trois fois. On obtient ainsi un liquide éthéro-alcoolique sucré et un léger dépôt gommeux.

Le liquide éthéro-alcoolique est filtré, puis évaporé à siccité, et le résidu repris par de l'eau acidulée par l'acide acétique. On a un liquide jaunâtre, qu'on traite par 5 gr. de charbon animal afin de parfaire la décoloration. On laisse au contact deux heures, on filtre et le charbon est lavé sur le filtre pour dissoudre les sucres qu'il peut retenir. En opérant avec du charbon animal très pur et avec de l'eau acidulée par l'acide acétique, l'adsorption des sucres est insignifiante. Le filtrat obtenu finalement passe incolore.

Une partie de ce filtrat est conservée telle quelle ; une autre partie est évaporée à siccité au B. M. Filtrat et résidu ont servi aux réactions suivantes :

Le filtrat réduit la liqueur cupro-alcaline.

Recherche des pentoses et hexoses :

Un peu de résidu additionné de phloroglucine et d'acide chlorhydrique concentré donne à chaud une coloration rouge. Cette réaction est due aux pentoses et aux hexoses.

Réaction de Bertrand[1] : un peu du résidu chauffé avec 2 cc. d'acide chlorhydrique concentré en présence d'une trace d'orcine donne une coloration rouge-orangé, caractéristique des hexoses (et méthylpentoses). Avec les pentoses on aurait une coloration bleu-violacé.

Recherche des sucres cétoniques :

1° Réaction de Selivanoff[1] : 2 à 3 cc. d'acide chlorhydrique

[1] G. Bertrand et P. Thomas : Guide pour les manipulations de Chirurgie biologique. Dunod, Edit. Paris, 1919, p. 64.

étendu de son volume d'eau sont additionnés de quelques milligrammes de substance sucrée et de résorcine, puis chauffés au B. M. pendant cinq minutes : les cétoses se colorent en rouge.

2° Réaction de Rosenthaler[1] : Deux à trois gouttes de solution sucrée avec 2 à 3 cc. de solution chlorhydrique de vanilline donnent à chaud une coloration rose si l'on a affaire à un sucre cétonique.

Ces deux réactions appliquées au filtrat et au résidu furent négatives.

Recherche des sucres aldéhydiques :

1° Réaction de Berg[2] : le sucre à examiner est oxydé par un excès d'eau de Brome (fraîchement préparée) au B. M. à la température de 60–70°, pendant dix minutes. On porte ensuite à l'ébullition pour chasser le brome. La liqueur devient incolore et les aldoses sont ainsi transformées en acide-alcool. On ajoute 10 cc. de solution diluée de perchlorure de fer légèrement chlorhydrique (100 cc. eau dist., IV g-ttes Fe^2Cl^6 officinal, II gttes HCl conc.) : la liqueur devient jaune-brun si elle renferme initialement des sucres aldéhydiques.

2° Réaction de Tollens et Rossive[3] : 4–5 cc. de solution sucrée sont portés à l'ébullition avec quelques milligr. de mélange de naphtol-résorcine à parties égales, 5 cc. d'acide chlorhydrique et 5 cc. d'eau distillée. Dans ces conditions, avec les aldoses il y a formation d'un précipité noir, soluble dans l'alcool à 95° en donnant une coloration violette avec fluorescence verte.

Ces deux réactions furent positives.

---

[1] L. Rosenthaler : Zeitschrift für Analytische Chemie, 1905.

[2] Berg : Bulletin de la Société Chimique de France (3), 31, 1904.

[3] Tollens et Rossive : Ber. der deutsch. Chem. Gesellschaft, 1908, 41, p. 1784.

Action de la phényl-hydrazine. Dans un tube à essai on met :

20 cc. liquide sucré,
1 cc. phényl-hydrazine,
1 cc. acide acétique crist.,
2 cc. solution d'acétate de soude à 25 %.

Le tube est placé au B. M. bouillant pendant 3/4 d'heure. Déjà au bout d'un quart d'heure il commence à se former des petits corpuscules jaunâtres, cristallins, qui se déposent peu à peu au fond du tube. Au bout de 3/4 d'heure, le tube est retiré du B. M., refroidi et son contenu jeté sur un filtre : il reste sur le filtre, après lavage par l'eau acétique, des cristaux jaunes, qui, examinés au microscope, ont la forme d'aiguilles fines isolées ou groupées en pinceaux ou en éventails, identiques à la glucosazone. Leur point de fusion, au bloc de Maquenne, est : 226° (la glucosazone fond vers 230°, lorsqu'elle est bien pure).

Ainsi la racine de Cnestis renfermerait, comme sucres réducteurs, des hexoses à fonction aldéhydique : vraisemblablement du glucose, étant donné l'analogie que l'osazone obtenue présente avec la glucosazone.

2° *Dosage des sucres.*

La recherche des glucosides relatée dans le chapitre précédent nous a déjà fait connaître la teneur en sucres réducteurs et hydrolysables, soit dans 100 gr. de bois :

0,145 gr. de sucre réducteur initial (exprimé en glucose), et 0,155 gr. de sucre réducteur après hydrolyse par l'invertine.

3° *Dosage de l'amidon.*

L'examen des coupes nous avait montré la présence notable d'amidon. Nous avons effectué le dosage de ce poly-

saccharide en le transformant par hydrolyse acide jusqu'au terme glucose.

Dans ce but 25 gr. de bois pulvérisé sont mis dans un ballon avec 200 cc. d'eau distillée et 6 cc. d'acide chlorhydrique concentré : On adapte un réfrigérant à reflux et on chauffe d'abord au B. M. bouillant pendant 4 heures, puis à une légère ébullition à feu nu pendant 30 minutes. Le liquide refroidi est filtré, neutralisé par la soude, amené au volume de 250 cc., puis déféqué par le réactif de Courtonne et filtré à nouveau.

Dans le filtrat final obtenu après élimination du plomb par le sulfate de soude, nous avons donné le sucre réducteur selon la technique de G. Bertrand, soit :

14,25 gr. de sucre réducteur total dans 100 gr. de bois.

En multipliant par 0,9 ce nombre, diminué de la petite quantité de sucre réducteur précédemment dosé après hydrolyse par l'émulsine (p. ...), on a approximativement la quantité correspondante d'amidon, soit :

$(14{,}25 - 0{,}630) \times 0{,}9 = 12{,}25$ gr. d amidon p. 100 gr. de bois.

III. — *Protides.*

Les matières albuminoïdes qui existent dans les cellules végétales peuvent être divisées en quatre groupes :

Albumines, Globulines, Glutellines (ou alcali-albumines) et Gliadines.

La solubilité des diverses albuminoïdes diffère selon leur nature :

Les albumines se dissolvent dans l'eau.

Les globulines sont insolubles dans l'eau, mais solubles dans les solutions salines (NaCl).

Les glutellines sont insolubles dans l'eau et dans les solutions salines, mais solubles dans les alcalis dilués.

Les gliadines sont insolubles dans l'eau, les solutions salines et alcalines, mais solubles dans l'alcool à 70°.

En nous basant sur ces solubilités nous avons fait les quatre épuisements suivants :

1° 25 gr. de bois sont épuisés par l'eau distillée à trois reprises en opérant chaque fois avec 80 cc. environ.

Les liqueurs réunies (250 cc. environ) constituent l'*extrait aqueux.*

2° La poudre précédemment traitée par l'eau est épuisée de même successivement par une solution aqueuse de chlorure de sodium à 5,7 %, puis à 10 %.

Les liqueurs réunies (150 cc. environ) constituent *l'extrait salé.*

3° Enfin la même poudre est épuisée par une solution de potasse à 2 ‰, on a ainsi l'*extrait potassique.*

4° 15 gr. de bois sont épuisés à plusieurs reprises par l'alcool à 80° et à 70°.

Les liquides alcooliques réunis constituent *l'extrait alcoolique.*

Avec ces divers extraits nous avons effectué les essais suivants :

I. — *Extrait aqueux* :

Ebullition	précipité blanchâtre
Acide nitrique conc. à chaud (réaction Xanthoprotéique)	Coloration jaune qui devient orangée par addition d'ammoniaque
Réactif de Millon à chaud (nitrate acide de mercure)	précipité rouge
Réaction de biuret	positive (coloration violette)
Soude et acétate de plomb à chaud ...	Coloration brun-noir

Saturation par sulfate de magnésium précipité blanc
Tanin ..... précipité
Réactif de Dragendorf ..... précipité
(iodo-bismuthate de potassium)
Réactif de Bourchardat (iod.-ioduré) précipité
Réactif de Bertrand (ac. silicotungstique) ..... léger trouble
Acide picrique ..... léger précipité
Ferrocyanure de potassium ..... léger précipité
Chlorure mercurique ..... néant

II. — *Extrait salé* :

Mêmes réactions que celles données par l'extrait aqueux ; seule, la réaction avec le réactif de Millon fut négative.

III. — *Extrait potassique* :

Mêmes réactions que celles données par l'extrait aqueux, mais l'ébullition ne provoque un précipité qu'après acidification, et la réaction de biuret fut impossible à constater à cause de la coloration rouge intense de liquide en essai.

IV. — *Extrait alcoolique* :

Nous avons évaporé à sec au B. M. une partie de l'extrait alcoolique et sur le résidu nous avons fait quelques essais :

La réaction de biuret, l'acétate de plomb et la soude à chaud, le réactif de Millon ont donné des résultats négatifs.

Nous pouvons donc conclure que le bois de la racine ne renferme pas de corps appartenant au groupe des gliadines, mais contient des albumines, des globulines et des alcali-albumines.

Azote total (microdosage volumétrique après Kjeldahlisation).

a) La destruction des matières organiques fut faite dans un matras de Kjeldhal, en employant dans un premier essai 10 cc. d'acide sulfurique concentré et un globule de mercure

comme catalyseur, mercure que l'on élimine ensuite avec de l'hypophosphite de soude ; dans un second essai 10 cc. du mélange acide sulfurique conc. et acide perchlorique (dans la proportion de 17,5 cc. H^2SO^4 et 32,5 cc. $HClO^4$) en ajoutant quelques billes de verre pour régulariser l'ébullition [1].

Dans les deux cas, nous avons opéré sur 0 gr. 50 de substance pulvérisée et desséchée. La première technique exige 8 heures pour obtenir une destruction complète, la seconde 3 heures seulement.

Dans les deux cas également la solution acide de sulfate d'ammoniaque obtenue a été amenée au volume de 100 cc.

b) Le microdosage alcalimétrique de l'ammoniaque a été fait sur 10 cc. (0,05 de substance) de ces solutions, avec l'appareil de Parnas et Wagner, l'ammoniaque dégagée étant reçue dans 10 cc. de H^2SO^4 N/70. L'excès de H^2SO^4 N/70 est dosé en retour avec NaOH N/70, le rouge de méthyle servant d'indicateur.

Résultats :

	Kjeldahlisation av. $H^2SO^4 + Hg$	Kjeldahlisation av. $H^2SO^4 + HClO^4$
Quantité de substance	0 gr. 05	0 gr. 05
$H^2SO^4 \frac{N}{70}$ saturé par l'ammoniaque (moyenne de 3 dosages)	2 cc.	1,6 cc.
Quantité d'azote correspondant	0 gr. 0004	0 gr. 00036
Quantité d'azote pour 100 gr. de substance	0,8	0,72

Soit en moyenne : 0 gr. 76 % d'azote.

---

[1] Procédé de destruction des mat. org. indiqué par Lematte, Boinot et Kahane. Journ. Ph. et Chim., 1927, T. V, p. 328.

En multipliant ce nombre par 6,25 nous aurons approximativement la teneur en matières albuminoïdes du bois de la racine, soit 4 gr. 75 %.

IV. — *Acides organiques.*

Les précipités plombiques antérieurement obtenus (p. 49) renferment, outre les matières tanniques, colorantes, etc..., les acides minéraux et organiques à l'état de sels de plomb.

Pour rechercher ces derniers, les précipités sont traités par un excès d'eau chaude et soumis à un courant d'hydrogène sulfuré pour éliminer le plomb.

Le sulfure de plomb est séparé par filtration et lavé sur le filtre avec de l'eau saturée d'hydrogène sulfuré, puis avec de l'eau distillée. Le filtrat est traité par un courant d'acide carbonique à chaud pendant 1/4 d'heure environ, puis le liquide est neutralisé par du carbonate de soude, concentré au B. M. jusqu'à faible volume (5 cc. environ) et additionné d'alcool à 95°.

Le précipité qui se forme dans ces conditions est en majeure partie composé des corps tanniques (il est conservé pour l'examen du tanin (p. 79). On le sépare par filtration et le filtrat alcoolique, brun-foncé, est décoloré par du charbon de sang, filtré à nouveau, évaporé au B. M. et repris par l'eau. On filtre et dans ce filtrat obtenu en dernier ressort nous avons cherché les acides suivant le tableau analytique indiqué par E. Schmidt [1].

Le filtrat est additionné d'une solution d'acétate de calcium au 1/10 et d'eau de chaux en grand excès (jusqu'à forte réaction alcaline), puis laissé au repos pendant 4 heures. Il se forme un précipité blanc, qu'on sépare par filtration.

Dans ce précipité, on cherche les acides tartrique et oxalique, et dans le filtrat les acides citrique, malique et succinique.

[1] E. Schmidt: Ausführliches Lehrbuch der Pharmazeutischen Chemie, II, 1896, p. 542.

A. — *Précipité.*

Le précipité est traité sur le filtre par de l'acide acétique dilué à chaud. Le tartrate de calcium seul se dissout dans l'acide acétique tandis que l'oxalate reste insoluble. La solution acétique est additionnée d'ammoniaque jusqu'à alcalinité. Si la solution renferme du tratrate de calcium, elle précipite par l'ammoniaque, et ce précipité se redissout par addition de chlorure d'ammonium.

Nous avons reçu un trouble blanc en ajoutant l'ammoniaque, mais ce trouble ne disparaît pas par addition de chlorure d'ammonium. Nous nous sommes assuré que la solution ne renfermait pas de tartrate en appliquant la réaction suivante (méthode de MOHLER [1]) qui fut négative : 2 cc. d'acide sulfurique concentré additionnés de deux gouttes de notre solution acétique et de deux gouttes de solution aqueuse de résorcine sont chauffés à l'ébullition : en présence d'acide tartrique il se produit une coloration rouge-violet. Notre solution en essai demeura incolore.

Le résidu insoluble dans l'acide acétique et resté sur le filtre est dissous dans l'acide chlorhydrique dilué au demi, et la solution est évaporée dans le vide. Le résidu obtenu, examiné au microscope, se présente sous forme de cristaux en enveloppes de lettres, caractéristiques de l'acide oxalique.

B. — *Filtrat.*

Dans le filtrat, nous avons recherché les acides citrique, malique et succinique par les réactions suivantes :

1° Le filtrat porté à l'ébullition donne un précipité que l'on sépare et redissout dans l'eau froide, et dans cette solution nous avons caractérisé l'acide citrique par la réaction de DENIGÈS [2] : 15 cc. de la solution avec 1 cc. du réactif

[1] G. DENIGÈS : Précis de Chimie analytique, Edition 1920, p. 191.
[2] Idem, p. 187.

de Denigès au sulfate de mercure sont chauffés à l'ébullition dans un tube à essai puis additionnés de III gouttes de permanganate de potasse à 2 %. Après quelques secondes, le liquide, s'il renferme de l'acide citrique, est décoloré et on obtient un précipité léger. Cette réaction, avec notre solution, fut positive.

2° 10 cc. de filtrat additionnés de I goutte d'acétate neutre de plomb donnent un précipité indiquant la présence d'acide malique qui précipite à l'état de malate de plomb.

3° Nous avons caractérisé la présence de l'acide succinique par trois réactions :

a) 10 cc. filtrat additionnés de III gouttes de perchlorure de fer dilué donnent une coloration rouge de succinate de fer.

b) 25 cc. de filtrat acidifié par l'acide chlorhydrique sont épuisés par l'éther ; celui-ci décanté est évaporé et le résidu est neutralisé par une goutte d'ammoniaque, puis additionné d'une goutte de perchlorure de fer très dilué. Nous avons obtenu une coloration rouge confirmant la présence d'acide succinique [1].

c) En évaporant à siccité la solution éthérée d'acide succinique nous avons obtenu également un résidu brun d'une odeur piquante, caractéristique.

En résumé, le bois de la racine du Cnestis polyphylla renferme les acides organiques suivants : *Acides oxalique, citrique, malique* et *succinique.*

V. — *Tanin.*

Recherches qualitatives sur les coupes :

Au cours des essais préliminaires (p. 38), le perchlorure de fer nous avait révélé la présence de tanin (précipité noir,) et de même au cours de l'étude botanique ce réactif avait produit un précipité noir dans certaines cellules (p. 15),

[1] AAGAARD : Thèse Pharmacie, Strasbourg, 1922, p. 53.

notamment dans les cellules de liège et dans les rayons médullaires.

En employant les méthodes microchimiques de différents auteurs, nous avons essayé de caractériser dans quelle catégorie de tanins cette substance tannique pouvait être classée, nous inspirant, pour cela, des recherches de M. BRAEMER [1], et nous souvenant, comme il l'indique, des réserves qu'il convient de faire parfois sur la spécificité des diverses réactions et de la nécessité de faire agir successivement différents réactifs.

Les réactifs utilisés furent les suivants :

1° Cyanure de potassium en solution aqueuse, qui colore les cellules renfermant l'acide gallique en rouge. Cette couleur disparaît au bout d'un certain temps.

2° Liqueur de Labarraque, qui donne une coloration orangée persistante dans les cellules renfermant l'acide ellagique.

3° Acétate de cuivre en solution aqueuse (1 : 100), qui précipite l'acide protocatéchique en rouge.

4° Réactif de Braemer (acéto-tungstate de sodium [2]), qui précipite le tanin en jaune fauve. Cette réaction est négative avec les acides gallique, protocatéchique, catéchique, pyrocatéchique et le quercitrin ; le même réactif colore les cellules à pyrocatéchine en vert.

Voici les résultats obtenus en faisant agir ces divers réactifs sur les coupes du Cnestis Polyphylla :

La première réaction avec le cyanure de potassium fut positive : nous avons obtenu une coloration rouge dans les cellules renfermant le tanin, c'est-à-dire dans les cellules précipitant en noir par le perchlorure de fer. Les quatre autres réactions furent négatives.

---

[1] L. BRAEMER : « Les Tannoïdes ». Thèse Diplôme supérieur de Pharmacie, Lyon, 1890.

[2] Réactif de BRAEMER : Tungstate de sodium, 1 partie ; Acétate de sodium, 1 partie ; Eau distillée q. s. pour 10 parties

Suivant ces indications notre substance tannique peut être classée parmi les tanins galliques :

Recherches qualitatives sur le tanin extrait :

Le précipité tannique précédemment conservé au cours de l'étude des acides organiques (p. 75) fut dissous dans l'eau. Nous avons obtenu un liquide brun foncé de saveur astringente, donnant les réactions suivantes :

1° Avec le perchlorure de fer, précipité noir.

2° Avec une solution d'alcaloïde (sulfate de Strychnine), précipité.

3° Avec une solution de gélatine, précipité.

Nous avons recherché alors s'il s'agissait de glucotanin, mais quelques centicubes de cette solution ne réduisent pas la liqueur cupro-alcaline à chaud, et d'autre part, additionnée d'émulsine et placée à l'étuve à 37° pendant 48 heures, elle ne produit pas davantage de réduction.

Il ne semble donc pas que notre substance tannique appartienne au groupe des glucotanins.

Dosage de tanin dans le bois :

Pour doser le tanin, nous avons emlpoyé le procédé indiqué par E. Abderhalden [1] :

5 grammes de bois pulvérisé sont épuisés à l'ébullition à trois reprises successives par 100 cc. d'eau distillée chaque fois pendant une heure. Les liquides d'épuisement sont réunis et filtrés. Au filtrat on ajoute 30 cc. de solution d'acétate de cuivre cristallisé à 4 %. Le précipité obtenu est recueilli sur un filtre et lavé à l'eau chaude. (Le filtrat doit passer vert, preuve d'un excès de cuivre.) Le précipité est séché, calciné et transformé en oxyde de cuivre par l'addition de une ou deux gouttes d'acide azotique et une nouvelle calcination, puis pesé : 1 gramme CuO correspond à 1 gr. 3061 de tanin.

[1] E. Abderhalden : Handbuch der biochemischen Arbeitsmethoden, Vol. VII, p. 378.

En suivant cette méthode, nous avons obtenu 0 gr. 087 du Cu O pour 5 gr. de bois, soit 1 gr. 074 pour 100 gr. de bois, ce qui correspond à 2 gr. 272 de tanin p. 100.

VI. — *Résine.*

Le liquide alcoolique, provenant de l'épuisement dans l'appareil de Kumagawa (p. 63) abandonne un produit résineux au cours des opérations successives qu'on lui fait subir pour en extraire l'insaponifiable et les acides gras.

Ce produit est recueilli par filtration et lavé sur le filtre avec de l'eau distillée, pour enlever les traces de chlorure de potassium et d'acide chlorhydrique qu'il peut retenir, puis desséché à l'air.

Il reste ainsi une résine de couleur brune, inodore et insipide, dont le poids est 1 gr. 2 pour 100 gr. de bois.

Elle est complètement insoluble dans l'alcool et l'ammoniaque concentrée, partiellement soluble dans la lessive de soude et le chloroforme, insoluble dans l'éther éthylique, l'éther de pétrole, la benzine, l'eau et les acides sulfurique et chlorhydrique concentrés.

Ingérée par des cobayes femelles de 450 à 500 gr en état de gestation, cette résine, à la dose de 0 gr. 50, provoque l'avortement en 20 à 40 heures.

B. — Analyse de l'écorce.

Les essais préliminaires nous ont montré qu'au point de vue qualitatif l'écorce de la racine du Cnestis Polyphylla diffère du bois par l'absence d'amidon et la présence d'une peroxydase.

Nous avons répété sur cette écorce certaines des recherches effectuées sur le bois, limitées toutefois par la quantité infiniment moindre que nous en possédions. Les techniques furent les mêmes, aussi nous bornerons-nous à donner les résultats obtenus.

I. — *Glucides.*

Qualitativement, on retrouve avec les glucides de l'écorce les réactions obtenues avec celles du bois (p. 67).

II. — *Protides.*

Au point de vue qualitatif, mêmes constatations que celles faites précédemment avec le bois, c'est-à-dire présence d'albumines, globulines, alcali-albumines et absence de gliadines.

Quant au dosage de l'*azote total* (microdosage avec l'appareil de Parnas-Wagner) voici les résultats obtenus :

	Kjeldahlisation av. H^2SO^4 + Hg	Kjeldahlisation av. H^2SO^4 + $HClO^4$
Quantité de substance en essai	0 gr. 05	0 gr. 05
$H^2SO^4 \frac{N}{70}$ saturé par l'ammoniaque (moyenne de 3 dosages)	3,4 cc.	3,1 cc.
Quantité d'Azote correspondant	0 gr. 00068	0 gr. 00062
Quantité d'Azote p. 100..	1,36	1,24

Soit en moyenne 1 gr. 30 % d'azote, d'où approximativement 8 gr. 125 de matières albuminoïdes p. 100 gr. d'écorce.

III. — *Asides organiques.*

Nous avons retrouvé dans l'écorce les mêmes acides organiques caractérisés antérieurement dans le bois : acides citrique, malique oxalique, succinique.

IV. — *Tanin.*

L'écorce renferme un tanin identique, par les réactions qu'il donne, à celui du bois, c'est-à-dire se classant parmi les tanins galliques.

Dosé selon la méthode d'Abderhalden, il existerait dans la proportion de 3 gr. 40 pour 100 gr. d'écorce.

C. — Matières minérales.

25 gr. de racine entière (écorce et bois), desséchée, sont incinérés dans un four électrique jusqu'à obtention de cendres grises.

Nous obtenons dans ces conditions 0 gr. 783 de cendres, soit 3 gr. 132 p. 100.

L'analyse de ces cendres nous a révélé la présence des corps suivants :

1° Fer.	6° Potassium.
2° Calcium.	7° Soufre.
3° Manganèse.	8° Chlore.
4° Magnésium.	9° Phosphore.
5° Sodium.	10° Silice.

Ces divers éléments furent recherchés seulement qualitativement, sauf le *manganèse* qui fut dosé selon la technique indiquée par G. Bertrand [1] ; elle consiste à transformer le manganèse en permanganate et à effectuer un dosage colorimétrique par comparaison avec une gamme de solutions étalons contenant des quantités connues de manganèse semblablement traitées.

Pour ce dosage, les cendres sont préparées comme suit : 5 gr. de racine sont incinérés au four électrique ; les cendres sont dissoutes dans 2 à 3 cc. d'acide chlorhydrique concentré ; la solution est évaporée au B. M., puis le résidu est calciné au four électrique avec 2-3 cc. d'acide sulfurique pour décomposer les chlorures. Tout le manganèse passe ainsi à l'état soluble. On le dissout dans l'acide azotique au quart le transforme en permanganate au moyen du persulfate de

[1] G. Bertrand et P. Thomas : Guide pour les manipulations de Chimie biologique. Dunod, Editeur, Paris, 1919, p. 31.

potasse en présence d'azotate d'argent et on amène à un volume déterminé par addition d'acide azotique au quart.

Par comparaison avec des solutions-types nous avons trouvé 0 gr. 0028 de manganèse pour 100 gr. de racine desséchée.

A ces éléments, il faut ajouter l'*arsenic* que nous avons caractérisé à l'aide de l'appareil de Marsh, en suivant le procédé employé par MM. JADIN et ASTRUC.

En 1912, ces auteurs signalèrent la présence de l'arsenic dans le règne végétal. Leurs essais ont porté sur 80 espèces de plantes, de familles botaniques diverses et de diverses origines [1], la plupart toutefois étant indigènes, quelques-unes seulement tropicales (Bananes, Dattes, Riz). Nous avons pensé qu'il était intéressant de rechercher l'arsenic dans le Cnestis polyphylla, plante exotique.

La destruction des matières organiques et l'obtention de la solution finale destinée à être introduite dans l'appareil de Marsh furent réalisées selon la technique de A. GAUTIER, modifiée par G. BERTRAND [2].

50 gr. de racine pulvérisée sont traités par 120 cc. d'acide azotique concentré très pur, et chauffés au Bain de sable dans une capsule de porcelaine jusqu'à solubilisation de la matière. La masse liquide est additionnée de 20 cc. d'acide sulfurique concentré très pur et chauffée jusqu'à apparition de vapeurs blanches d'acide sulfurique. On ajoute alors 25 cc. d'acide azotique concentré et on poursuit le chauffage jusqu'à carbonisation.

Le charbon est pulvérisé, repis par l'eau bouillante, et on filtre. Le filtrat brun est réduit par quelques gouttes de

---

[1] JADIN et ASTRUC : La présence de l'arsenic dans le règne végétal. Journ. Ph. et Ch., 1912, T. VI, p. 529.

[2] OGIER et KOHN-ABREST : Traité de Chimie toxicologique, T. I, p. 541-573.

[3] JADIN et ASTRUC : Appareil producteur d'hydrogène. Journ. Ph. et Ch., 1912, T. V, p. 233.

bisulfite de soude (pour transformer l'acide arsénique en acide arsénieux plus facilement précipitable par l'hydrogène sulfuré), puis porté à l'ébullition pour chasser l'acide sulfureux formé. Le liquide est ensuite soumis pendant 5 heures à un courant lent d'hydrogène sulfuré parfaitement exempt d'arsenic.

Le précipité formé, séparé par filtration, est dissous dans l'ammoniaque au tiers; la solution ammoniacale est évaporée au B. M. et le résidu d'évaporation est oxydé par l'acide azotique, puis repris par l'acide sulfurique ; on chauffe pour éliminer l'acide azotique et jusqu'à apparition de fumées blanches. Cette solution sulfurique est introduite dans le flacon producteur d'hydrogène, imaginé par MM. JADIN et ASTRUC, qui assure l'élimination parfaite de l'oxygène et évite aussi toute perte de l'hydrogène arsénié formé [3]. Nous avons dans ces conditions obtenu un anneau très net d'arsenic.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES.

Le *Cnestis polyphylla*, objet de notre étude, est un arbuste de la famille des Connaracées, croissant à Madagascar et à l'Ile Maurice. Les Malgaches utilisent ses racines pour empoisonner les chiens. A l'état frais elles exhaleraient une odeur forte de chou ou de raifort, mais desséchées et telles que nous les avons reçues, elles sont inodores et sans saveur, comme les tiges d'ailleurs. Chez les unes et les autres le bois est jaune clair, l'écorce brunâtre, peu épaisse, et les divers parenchymes renferment de nombreux cristaux d'oxalate de chaux.

Ecorce et bois de la racine et de la tige sont toxiques, mais inégalement : l'écorce de la racine apparaît 2,65 fois plus toxique que le bois de la racine et l'écorce de la tige (bois de la racine et écorce de la tige ayant sensiblement la même toxicité), et 10 fois plus toxique que le bois de la tige. Le cobaye se montre moins sensible que le lapin et le chien à l'action de ce poison. La dose léthale, ramenée au kilogr. de poids vif, est pour le lapin : 1,20 gr. d'écorce et 3,23 gr. de bois de la racine ; 3,40 gr. d'écorce et 12,25 gr. de bois de la tige. Avec ces doses, les symptômes d'intoxication apparaissent de 20 à 30 heures après l'ingestion de la drogue et se traduisent par de la paralysie des membres, des convulsions, avec respiration stertoreuse, hypersécrétion des glandes salivaires et lacrymales, hyperglycémie (2,60 gr. à 2,97 gr. de glucose p. 1000 cc. de sang), forte glycosurie (25 à 30 et jusqu'à 75 gr. de glucose p. 1000 cc. d'urine), et de l'albuminurie (1 à 2 gr. d'albumine p. 1000 cc.

d'urine). La mort survient au bout de 60 à 70 heures. — A l'autopsie, rien de saillant macroscopiquement, mais l'examen cytologique révèle un foie complètement privé de glycogène, et dans le pancréas, riche encore en grains sécrétoires, une altération des îlots de Langerhans expliquant l'absence de glycogène hépatique. Les glandes salivaires ne présentent rien de net, mais elles sont notablement diminuées de volume (réduction de 1/3 et même de 1/2).

Ni les viscères, ni le cerveau et le bulbe d'un animal mort en intoxication aiguë ne déterminent des symptômes d'empoisonnement chez un animal sain qui les absorbe ; l'Injection intrapéritonéale du sang d'un animal intoxiqué n'en provoque pas davantage.

Des mesures de chronaxie sur les nerfs et le muscle de l'animal intoxiqué montrent qu'il s'agit uniquement d'un poison musculaire, et comme tel agissant sur le tissu glandulaire et en premier lieu sur les glandes à sécrétion interne. La chronaxie musculaire augmente en effet dans la proportion de 1 à 2, tandis que la chronaxie du nerf ne change pas.

Les solvants habituels (eau acidulée par l'acide chlorhydrique ou alcalinisée par la soude, alcool, chloroforme, benzine, éther, éther de pétrole....) n'arrivent pas à enlever complètement à l'écorce et au bois du Cnestis polyphylla leur toxicité, même en les faisant agir à la température d'ébullition pendant un temps prolongé. Le principe actif n'est pas une toxine végétale puisque la chaleur ne le détruit pas ; et il ne paraît pas être de nature alcoloïdique puisque l'extrait alcoolique, qui est toxique et produit toutes les symptômes d'empoisonnement, ne donne aucun précipité avec les réactifs généraux des alcaloïdes et ne renferme d'ailleurs pas d'azote.

Par contre la recherche des glucosides par la méthode biochimique de Bourquelot qui est spécifique, fut positive (changement des pouvoirs rotatoire et réducteur après action de l'émulsine) ; mais elle ne révèle qu'une quantité

très faible de glucoside, ce qui ne saurait étonner, la majeure partie de ce corps ayant pu être décomposée au cours de la dessication puisque la plante renferme elle-même de l'émulsine. Le glucoside est-il le principe actif laissant, après dédoublement diastasique, un aglycone toxique? On ne saurait répondre qu'après extraction du glucoside même, et l'étude du Cnestis polyphylla doit, à ce point de vue, être reprise sur des organes frais stabilisés.

Par ailleurs la racine de cette plante a la composition chimique résumée ci-dessous. Au cours de notre analyse nous avons en particulier montré que l'extraction des lipides par l'alcool bouillant et leur dosage par la méthode de KUMAGAWA s'imposent si l'on veut une détermination précise de ces substances : ainsi avec le Cnestis la proportion d'insaponifiable et d'acides gras non extraite par l'éther de pétrole dans le classique appareil de Soxhlet atteint 33,3 et 46,6 p. 100.

Composition chimique de la racine du « Cnestis polyphylla ».

1° *Lipides* (insaponifiable et graisses neutres) : 0,337 gr. p. 100 gr. de bois.
Insaponifiable : 0,18 gr. (0,0045 gr. phytostérol).
Acides gras : 0,15 gr. (= 0,157 graisses neutres).

2° *Glucides* : Sucres réducteurs et hydrolysables : 0,155 gr. p. 100 gr. de bois.
Amidon, environ 12,25 gr. p. 100 gr. de bois.
(L'écorce renferme 0,24 gr. % de sucres réducteurs et hydrolysables, mais ne renferme point d'amidon).

3° *Protides* : environ 4,75 gr. p. 100 gr. de bois,
8,12 gr. p. 100 gr. d'écorce.

4° *Acides organiques* : acides citrique, malique, oxalique, succinique.

5° *Tanin* : (appartenant au groupe des tanins galliques) :
environ 2,27 gr. dans 100 gr. de bois,
» 3,40 gr. dans 100 gr. d'écorce.

6° *Résine* : environ 1,20 gr. p. 100 gr. de bois.

7° *Cendres* : 3,13 gr. p. 100 gr. de racine : Mn (0,0028 p. 100 de racine), Fe, Ca, Mg, K, Na, S, Cl, P, Si, As.

Vu et bon à imprimer
Strasbourg, le 11 juillet 1929
Le Président de Thèse
J.-E. LOBSTEIN.

Vu et approuvé
Strasbourg, le 13 juillet 1929
Le Doyen
de la Faculté de Pharmacie
F. JADIN.

Vu et permis d'imprimer
Strasbourg, le 13 juillet 1929
Le Recteur
Chr. PFISTER.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE.

AAGARD : Thèse Pharmacie, Strasbourg, 1922.

ABDERHALDEN E. : Handbuch der biochemischen Arbeitsmethoden, vol. III.

BAILLON H. : Histoire des Plantes, t. II.

BAKER I. G. : Flora of Mauritius and the Seychelles.

BEILLE L. : Botanique pharmaceutique, t. I, Maloine, édit., Paris 1925.

BENTHAM G. et HOOKER : Genera plantarum, vol. I.

BERG M. A. : Sur une réaction des sucres à fonction aldéhyde. *Bull. de la Soc. chim.* (3), 31, 1904.

BERTRAND G. et THOMAS P. : Guide pour les manipulations de Chimie biologique, Dunod, édit., Paris 1919.

BOJER W. : Hortus Mauritianus, Maurice 1837.

BOURQUELOT : Méthode biochimique de recherche des glucosides. *Journ. de Pharmacie et Chimie*, 1901, t. 14 ; *Journ. de Pharmacie et Chimie*, 1910, t. 2.

BRAEMER L. : Les Tannoïdes : Thèse Diplôme supér. de Pharm., Lyon 1890.

BRIDEL : Durée de la percolation. *Journ. de Pharmacie et Chimie*, 1925, t. II.

DENIGÈS G. : Précis de Chimie analytique. Maloine, édit., Paris 1920.

ENGLER A. et PRANTE K. : Pflanzenfamilien nebst ihren Gattungen und wichtigen Arten, vol. III (3e série).

GORIS A. : Localisation et rôle des alcaloïdes et des glucosides chez les végétaux. Lechevalier, édit., Paris, 1914.

GRIGAUT : Dosage colorimétrique de la cholestérine. *Journ. de Pharmacie et Chimie*, 1914 7e *série*.

GUIARD et GRIMBERT : Diagnostic chimique, microscopique et parasitologique, Lamarre, édit., Paris, 1922.

HECKEL E. : Plantes médicinales de Madagascar. *Annales du Musée colonial de Marseille*, 1903, 2e *série*.

INABA : Bioch. Zeitschr., 1908, VII.

Jadin F. et Astruc A. : La présence de l'arsenic dans le règne végétal, *Journ. de Pharmacie et Chimie*, 1912, t. IV.
— Appareil producteur d'hydrogène. *Journ. de Pharmacie et Chimie*, 1912, t. V.
Lapicque L. : L'excitabilité en fonction du temps : Les Presses Universitaires, Paris, 1926.
Lemathe, Boinot et Kahane : Procédé de destruction des mat. org., *Journ. de Pharmacie et Chimie*, 1927, t. V.
Lobstein E. : Recherches biochimiques sur le Bac. tuberculeux (Thèse Doct. ès. Sc. 1922).
Lobstein E. et avec ses Elèves Coisnard, Hesse, Mousseli : Analyse de diverses drogues (Thèses Doct. en Pharmacie, Strasbourg).
Ogier et Kohn-Abrest : Traité de chimie toxicologique, Doin, édit., t. I, Paris 1924.
Olivier D. : Flora of tropical Africa, vol. I.
Planchon G. : Histoire naturelle des drogues simples, t. III.
Rosenthaler : Nachweis organischer Verbindungen, 1923.
— Zeitschrift für Analytische Chemie, 1896, II.
Schmidt E. : Ausführliches Lehrbuch d. Pharmaceutischen Chemie, 1896, II.
Solederer H. : Systematische Anatomie der Dicotyledonen.
Terroine (et ses Elèves) : Annales des falsifications, 1927.
Tollens et Rossive : Ber. d. Deutschen Chem. Ges., 1908, 41.

TABLE DES MATIÈRES.

Pages

INTRODUCTION 5

PREMIÈRE PARTIE.

ÉTUDE BOTANIQUE.

I. — Généralités sur les Connaracées 9
II. — Etude du Cnestis polyphylla 11

DEUXIÈME PARTIE.

ÉTUDE TOXICOLOGIQUE.

CHAPITRE Ier. — Symptômes et marche de l'empoisonnement par les racines et tiges du Cnestis polyphylla..... 18

CHAPITRE II. — Lésions cytologiques, et recherche de la toxicité possible de certains tissus ou viscères de l'animal intoxiqué 24

CHAPITRE III. — Action sur les systèmes nerveux et musculaire 27

CHAPITRE IV. — Valeur toxique relative de la racine et de la tige et de leurs différentes parties (écorce, bois) 31

TROISIÈME PARTIE.

ÉTUDE CHIMIQUE.

Essais préliminaires 37

CHAPITRE Ier. — Recherche du principe actif du Cnestis polyphylla 41

Pages

I. — *Recherche des Alcaloïdes* 41

II. — *Recherche des Glucosides* 45

III. — *Recherche de la toxicité de divers extraits et de la drogue épuisée correspondante* 51

Tableau récapitulatif 60

CHAPITRE II. — Composition chimique de la racine du Cnestis polyphylla 62

A. — Analyse du bois :

1° *Lipides* 62

2° *Glucides* 67

3° *Protides* 71

4° *Acides organiques* 75

5° *Tanin* 77

6° *Résine* 80

B. — Analyse de l'écorce 80

C. — Ecorce et bois : *Matières minérales* 82

CONCLUSIONS GÉNÉRALES 85

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE 89

1929 — Strasbourg
Imprimerie des Éditions Universitaires de Strasbourg